
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LES MICROBES

DE L'INFECTION MALARIQUE AIGÜE ET CHRONIQUE

CHEZ LES OISEAUX ET CHEZ L'HOMME

PAR M. LE PROFESSEUR V. DANILEVSKY, DE KARKOFF.

Il faut admettre, avec la majorité des auteurs, que l'infection malarique aiguë diffère chez l'homme de la forme chronique (cachexie malarique), non seulement par les symptômes de la maladie, mais aussi par la forme des parasites sanguins.

Dans la malaria typique, le microbe se présente sous l'aspect d'un petit hématozoaire amiboïde, non pigmenté au début, et contenant plus tard des corpuscules de mélanine. Ce microbe (*corps sphérique, plasmodium, hæmatophyllum, hæmamæba, hæmatobium*, etc., chez les divers auteurs) augmente de dimensions et donne ensuite, par voie de sporulation, de très petites spores, qui, devenues libres, passent dans le plasma et pénètrent de nouveau dans les corpuscules sanguins. Par contre, dans l'infection chronique, on constate d'autres formes, les *pseudovermiculi* (corps en croissant, *Laverania*), et le *Polimitus* flagellé. On observe parallèlement une différence tranchée dans la marche des températures dans les deux formes de l'infection malarique, et dans leurs rapports vis-à-vis de l'action de la quinine.

En ce qui concerne *les oiseaux*, c'est la forme *chronique* seule

de l'infection malarique qui a été comprise dans les recherches que j'ai publiées jusqu'ici ¹.

La température des animaux atteints de cette forme de la maladie ne diffère presque point de celle des animaux complètement normaux. En général, à de rares exceptions près (*l. c.*, pages 10, 24, 79), il était impossible de remarquer aucune différence tranchée entre les propriétés et l'aspect des oiseaux contenant des parasites sanguins, et des oiseaux qui n'en avaient pas; et cela même à l'aide d'observations prolongées pendant des semaines et des mois.

Je désignais ces oiseaux comme « sains » (normaux) parce qu'ils ne présentaient point de symptômes d'affection générale. Dans des circonstances défavorables, ces mêmes oiseaux devenaient par contre visiblement souffrants; c'était quand la destruction des hémocytes avait dépassé certaines limites et qu'une grande accumulation de mélanine s'était produite. Parfois, on observe une disparition temporaire des parasites sanguins, après quoi ils réapparaissent en quantité plus grande encore. On constate des cas analogues chez l'homme : un individu, en apparence complètement guéri de l'impaludisme, peut avoir une rechute après avoir quitté la localité paludique, c'est-à-dire sans aucune réinfection du dehors. Cela fait admettre que l'organisme n'était point encore exempt de microbes pathogènes, mais que ceux-ci y étaient à l'état latent; dans des circonstances données, ils se développent et produisent une rechute (auto-infection). Il n'est pas inutile de rappeler à cette occasion que l'on a observé chez l'oiseau comme chez l'homme (*Councilman*) des cas où le sang périphérique ne contenait pas de microbes, tandis que celui de la rate ou de la moelle des os en contenait.

Dans la malaria chronique des oiseaux, on retrouve les mêmes formes flagellées (*Polimitus malariae avium*) et vermiculaires (*Pseudo vermiculi*; syn. *Laverania avium*) que dans le sang de l'homme en cas analogue. Les deux formes se développent dans les pseudo-vacuoles des hémocytes, c'est-à-dire comme des hémocytozoaires.

Vu les analogies indiquées, ainsi que la communauté morphologique et biologique des caractères des hématozoaires de

1. *Parasitologie comparée du sang*, I, 1889, Kharkoff.

l'homme et de l'oiseau, je me suis cru autorisé à classer les parasites des oiseaux parmi les *microbes malariques pathogènes*.

Malgré la similitude frappante des hémocytozoaires (*Polimitus*, *Pseudospirilla*), du mélanosis, de la *melanæmia* des organes chez l'homme et l'oiseau, beaucoup de savants ont exprimé des doutes sur l'exactitude de mes conclusions, et cru qu'il ne pouvait être question que d'une ressemblance extérieure des parasites sanguins des oiseaux avec les *vrais* microbes malariques de l'homme.

Aujourd'hui je puis apporter à l'appui de mes conclusions précédentes un fait constaté par moi dans le courant de cette année avec une grande précision : ainsi que l'homme, les oiseaux sont sujets à une *infection malarique aiguë*, pendant laquelle apparaissent dans leur sang des microbes intracellulaires (*hæmatozoa malarie acute*), tout à fait analogues à ceux de l'homme dans la fièvre tierce et quarte. La température de l'oiseau s'élève modérément (de 40,0 à 40,5 et plus); il perd l'appétit, devient apathique; son plumage se flétrit : on observe même des phénomènes de convulsions; le poids du corps diminue. L'oiseau est indubitablement malade, et les symptômes s'aggravent parallèlement à la multiplication du microbe. Tout le cycle de la maladie se termine à peu près en 4-6 jours, après quoi survient la guérison, c'est-à-dire la disparition des microbes du sang; l'état général redevient normal.

Plusieurs oiseaux succombèrent pourtant pendant la période de multiplication la plus intense des hémocytozoaires par voie de sporulation.

Au début de la maladie, le microbe apparaît dans l'hémocyte sous l'aspect d'une pseudovacule très petite (2 à 3 μ) à contours irréguliers et anguleux, ou arrondis, et sans corpuscules de mélanine. Je n'ai jamais vu dans aucun cas de mouvements amiboïdes; ce n'est que rarement que l'on aperçoit des changements insignifiants dans les contours du microbe, et cela seulement si on l'observe pendant 10-20 minutes de suite; je regarde aussi comme impossible de le comparer sous ce rapport aux hémocytozoaires si mobiles de l'homme ¹.

1. Il est très probable que c'est à la densité plus grande de l'hémocyte de l'oiseau, et à la présence d'un noyau qu'est dû l'affaiblissement des mouvements amiboïdes du cytozoaire des oiseaux; chez l'homme, les conditions sont inverses, c'est pour quoi je crois qu'il ne faut pas attribuer à cette distinction une valeur zoologique.

Le sang de l'oiseau malade, examiné le lendemain, présente déjà un autre aspect; les microbes endoglobulaires ont une dimension bien plus grande, et contiennent des corpuscules de mélanine. La croissance du parasite s'opère, évidemment, aux dépens de la substance de l'hémocyte, en provoquant en même temps une transformation de l'hémoglobine en mélanine comme produit de métamorphose régressive. Le troisième ou le quatrième jour, les corpuscules de mélanine se rassemblent en une agglomération centrale et la sporulation commence en même temps: l'hématozoaire agrandi et arrondi se couvre de sillons radiaux qui, en s'approfondissant, le divisent en plusieurs spores.

Ce stade a l'aspect d'une marguerite ou rosette; sa dimension est d'un tiers ou de la moitié de l'hémocyte. Le nombre des spores est de 8 à 10, mais souvent de 20 et plus, et alors l'agglomération parasitaire a l'aspect d'un fruit de mûrier.

Si les spores sont peu nombreuses, elles se disposent sur un seul plan, correspondant à celui de l'hémocyte (*sit venia verbo*); si, au contraire, elles sont nombreuses, l'hémocyte lui-même acquiert une forme ellipsoïde ou sphérique. Les spores ne restent pas longtemps unies: elles se différencient bientôt, se séparent et s'introduisent individuellement dans le plasma.

On observe à l'intérieur de chacune des spores, lorsqu'elles ne sont même pas encore séparées les unes des autres, la présence d'un grand corpuscule, vraisemblablement le noyau. Ces spores se colorent facilement avec le bleu de méthylène ou la safranine (en rose). Ainsi le développement de cet hématozoaire, aussi bien que son mode de reproduction et que l'aspect de ses spores, ne présentent pas de différences tranchées avec ceux de l'hématozoaire du sang de l'homme atteint de paludisme. Cette similitude est aussi profonde et remarquable que pour les hémomicrobes de la cachexie malarique chez l'homme et l'oiseau.

Quant à la forme des spores libres, elles ont l'aspect de corpuscules ovales très petits, à contours nets et épais, surtout aux pôles du corpuscule. La partie centrale est plus claire et transparente. Ces spores ont ainsi une grande ressemblance avec celles de certaines *sporidia* (*Sarco* et surtout *Microsporidia*).

Si, avant la maladie, le sang était complètement exempt d'hémocytozoaires, on ne retrouve dans cette période ni *Laverania*, ni *Polimitus*.

Le développement de ces formes aux dépens des pseudo-vacuoles demande plus de temps chez certains oiseaux, pas moins de 6 à 7 jours.

C'est ainsi qu'après une telle période, à partir de l'apparition des pseudo-vacuoles, c'est-à-dire de l'hématozoaire à sa phase embryonnaire, on peut trouver, dans le sang de l'oiseau malade, en même temps des pseudo-vacuoles, des phases de sporulation du cytozoaire, le *Polimitus* et le *Laverania*.

Ces deux dernières formes se développent aux dépens des pseudo-vacuoles les plus grandes, à l'intérieur desquelles on voit nettement un noyau clair, globuleux, à contours très délicats ; il devient sphérique avant la transformation de la pseudo-vacuole en forme flagellée ou en croissant.

Chez deux oiseaux (un freux et une pie), la maladie se termina après une période de 5 jours ; le nombre des hémocytozoaires diminua rapidement, et 6 à 7 jours après le début de la maladie, le sang en était complètement dépourvu. Mais dans d'autres cas les microbes, notamment le *Laverania* et le *Polimitus*, y séjournent beaucoup plus longtemps (10-20 jours) ; on peut observer chaque jour la transformation de ces formes provenant des hémocytozoaires sphériques. Mais ensuite ces pseudo-vacuoles disparaissent aussi peu à peu du sang, et il survient une période « d'amicrobisme » qui dure diversement, de 6 à 10 jours quelquefois, après quoi les petites pseudo-vacuoles réapparaissent. Ces dernières s'agrandissent vite, se transforment en grands hémocytozoaires munis de granulations minuscules et de grands noyaux ; c'est le 5^e jour à peu près qu'ils se transforment en *Polimitus* flagellés et mobiles.

Quoique je ne sois pas encore en état de préciser le terme du cycle du développement et la période « d'amicrobisme », néanmoins les données ci-dessus suffisent à mettre hors de doute la *périodicité* de ces phénomènes. L'état général de l'animal et les oscillations de sa température sont en corrélation complète avec l'état de son hémomicrobisme. A l'heure qu'il est, on fait dans mon laboratoire des expériences systématiques, afin d'éclaircir ce côté pathologique de la question, ainsi que celui de l'infection artificielle des animaux par la malaria. J'espère pouvoir bientôt communiquer les résultats obtenus.

Ces nouveaux faits confirment indubitablement l'opinion que

j'avais émise, à savoir : que les *hématozoaires des oiseaux* sont des microbes malariques pathogènes, semblables à ceux de l'homme. Je me crois autorisé à affirmer que tous ces parasites sont complètement identiques sous tous les rapports, pathogènes comme zoologiques. Pour élucider complètement cette question, il est entre autres indispensable de faire des expériences d'infection artificielle de l'homme avec les hémomicrobes de l'oiseau et inversement. Je n'ai pas encore eu la possibilité de faire de pareilles expériences. Mais je crois que la proche parenté de ces microbes, c'est-à-dire leur communauté de genre doit être hors de doute pour tout biologiste. Sous ce point de vue, je tiens à mon opinion antérieure sur la similitude des hémocytozoaires malariques de l'oiseau et de l'homme.

Pour se faire une idée juste des relations de parenté entre différents hématozoaires, ainsi que de leurs caractères morphologiques et biologiques, il est indispensable, comme je l'ai du reste constamment indiqué, d'envisager le sang (y compris ses globules et ses organes hématopoétiques) non comme un milieu indifférent et passif comme est l'eau par exemple, mais comme ayant chez chaque sujet, homme ou animal, des propriétés physiologiques, physiques et chimiques différentes. Le sang doit alors pouvoir modifier les caractères biologiques et pathogènes des parasites sanguins, en modifiant leur nutrition, leur développement, reproduction, sporulation, les mouvements amiboïdes, la vitesse et le sens de leurs métamorphoses, etc.¹.

On peut ainsi expliquer, par exemple, l'absence (?) du stade mobile du *Laverania* (c'est-à-dire de l'hémogrégarine) chez l'homme, et de la phase de *Hamamæba* chez l'oiseau, etc.

Les Hémoprotozoaires, possédant à un haut degré des caractères bioplastiques, s'adaptent évidemment aux différentes conditions physiques et chimiques de leur vie, ce qui se traduit par des modifications de leurs caractères morphologiques et biologiques. Ce sont les parasites *intracellulaires* comme les Mycétozoaires et Sporozoaires, qui présentent sous ce rapport les formes d'observation les plus intéressantes. Il est vraisemblable à ce point

1. Pour mieux se représenter ceci, on n'a qu'à se rappeler le fait de l'action modifiante de la *nutrition* sur la reproduction et les transformations de certaines Monadines, Rhizopodes, Flagellés, Infusoires, etc.

Ces procès peuvent être tantôt accélérés, tantôt arrêtés, tantôt complètement modifiés, par la quantité et même la qualité de la nourriture.

de vue que les hémomicrobes malariques appartiennent aux formes inférieures des Sporozoaires. Du reste, cette question spéciale de classification des parasites malariques sanguins, de leur place dans le système zoologique, présente beaucoup de difficultés, et sa solution doit être abandonnée à des spécialistes compétents dans cette branche d'histoire naturelle.

En ce qui concerne la question de l'individualité zoologique du microbe malarique, notamment de savoir si nous avons affaire, dans les infections malariques, à un même parasite qui se présente seulement dans des stades différents de son développement et de ses transformations, ou à plusieurs formes zoologiques indépendantes, la solution définitive dépend, évidemment, de celle de la première question, et est ainsi encore prématurée. Je crois pourtant devoir rappeler à ce sujet qu'il y a dans ma *Parasitologie comparée du sang* un fait de similitude zoologique relative (d'espèce ou de genre du moins) entre deux hématozoaires, évidemment complètement différents : mes observations (*l. c.*, page 72) ont démontré que le *Herpetomonas Lewizi* (syn. *flagellated organism of the blood* des rats et des hamsters, d'après Lewiz, Wittich), monade douée d'une vie et d'une reproduction indépendante, n'est qu'un jeune stade de la forme flagellée connue sous le nom de *Trypanosoma sanguinis*, qui complète son développement dans le sang d'autres animaux (poissons, grenouilles, oiseaux) ; c'est pourquoi j'ai proposé de donner à ce jeune stade un autre nom : *Trypanomonas*. On rencontre des faits analogues chez d'autres protozoaires. Cela nous apprend à être très réservé dans la délimitation des divers microbes malariques, comme formes zoologiques indépendantes.

Il serait par suite prématuré de nier la probabilité de l'hypothèse *unitaire* des infections malariques, d'après laquelle toutes les formes d'hématozoaires malariques seraient liées entre elles par une parenté génétique ¹.

1. M. Laveran a exprimé la même opinion : « l'hématozoaire du paludisme est polymorphe, mais unique ». (*Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1890, n° 23, p. 378.)

RECHERCHES SUR LES ORGANISMES DE LA NITRIFICATION

(3^e MÉMOIRE.)

PAR M. S. WINOGRADSKY¹.

J'ai fait connaître dans deux mémoires antérieurs un organisme nitrifiant, et j'ai tâché d'esquisser l'ensemble de ses traits les plus essentiels. Sa faculté d'assimiler le carbone des carbonates et de préparer de la substance organique par une synthèse complète était surtout inattendue.

Ce mémoire contribuera à confirmer ce fait nouveau, en apportant des chiffres de dosages de carbone assimilé, relativement plus importants que ceux que j'avais à ma disposition, lors de la publication de mon second mémoire.

Après avoir découvert le microbe en question, j'ai tenu à démontrer en premier lieu que son pouvoir nitrifiant était aussi intense qu'on pouvait l'exiger de l'agent nitrificateur du sol ; les quelques chiffres de dosage d'azote nitrifié que je mentionnais n'avaient que ce but. Je laissais à dessein de côté la question de savoir si l'azote ammoniacal était transformé en acide nitreux ou en acide nitrique, et c'est pour cela que je me contentais, au début, d'un seul dosage, celui de la totalité de l'azote oxydé ; je le faisais par le protochlorure de fer ; souvent j'en calculais le résultat comme acide nitrique ou nitrate.

Le fait cependant, très régulier et constant, de la présence de l'acide nitreux dans les liquides en voie de nitrification ne m'avait pas échappé, mais je tendais, au début de mes études, à le considérer, avec MM. Schlösing et Müntz, comme peu essentiel, comme anormal, l'acide nitrique étant, d'après ces auteurs, le

1. Travail fait à l'Institut hygiénique de l'Université et au laboratoire de chimie agricole de l'École polytechnique de Zurich.

seul produit normal de la nitrification. Je m'attendais donc à voir disparaître ce produit d'oxydation incomplète de mes cultures, en en perfectionnant le procédé. Il n'en fut rien, et je dus bientôt abandonner cette manière de voir.

En ce moment je ne suis pas encore en mesure d'en adopter définitivement aucune autre, et je me contenterai de rapporter une suite d'analyses, qui montreront dans quelles proportions relatives l'azote nitreux et l'azote nitrique sont représentés dans le produit de l'action du ferment nitrique de Zurich.

I

Les expériences dont nous nous occuperons ont été entreprises principalement dans le but de faire ressortir d'une manière plus frappante l'accumulation du carbone organique dans les cultures du microbe.

Pour ce but, il était évidemment nécessaire de prolonger autant que possible la durée d'une culture, issue d'une quantité minima de semence, en la tenant dans les conditions les plus propices à la nitrification, et d'en déterminer finalement le gain en carbone combustible. J'y ai joint des dosages répétés de l'azote nitreux et nitrique, de manière à avoir pour chaque culture, à la fin de l'expérience, qui a duré plusieurs mois, un compte complet de tous les produits de l'action du ferment : carbone organique, nitrites et nitrates.

Avant d'exposer ces résultats, quelques remarques sur le procédé de culture et sur les méthodes d'analyse dont je me suis servi, sont indispensables.

On ne pouvait juger de l'abondance du développement de l'organisme que d'après son action oxydante : à une quantité plus considérable d'ammoniaque nitrifiée correspondrait probablement une production plus riche de substance organique. Je me suis donc proposé d'attendre l'oxydation d'au moins 3 grammes de sulfate d'ammoniaque avant de procéder au dosage du carbone. Comme tout excès de sel ammoniacal est très nuisible au microbe¹, on ne pouvait évidemment

1. Voir mon second mémoire : ces *Annales*, n° 5.

songer à offrir toute cette quantité d'un coup, mais par petites portions, à mesure de l'oxydation. Il me paraissait de même peu favorable, pour plusieurs raisons, de laisser vivre les organismes tout le temps dans une seule et même portion du liquide, dont la teneur en nitrites ou nitrates aurait atteint finalement 2 ou 3 %.

Il fallait donc de temps en temps renouveler le milieu, sans rien perdre des organismes actifs. Ceci ne présente pas de difficultés : on filtre, comme je l'ai indiqué dans une autre occasion, le contenu d'une culture à travers un petit tampon d'amiante calcinée, on lave par un peu d'eau stérilisée; puis le tampon avec le dépôt est saisi par une pincette et jeté dans le liquide frais; on y fait couler ensuite l'eau de lavage de l'entonnoir, pincette, etc., qu'on essuie encore au besoin par un flocon d'amiante calcinée, jeté aussi dans le même vase. Ce renouvellement du liquide se faisait chaque 40-50 jours, rarement à des intervalles plus longs.

Les liquides ayant servi d'habitat au microbe, et ne contenant plus trace d'ammoniaque, étaient soumis à l'analyse le plus tôt possible après l'extraction des organismes. On y dosait l'azote nitreux et nitrique, et on en conservait la moitié, après l'avoir stérilisée, pour le dosage du carbone organique en dissolution.

Je tenais à connaître la production de nitrites et de nitrates pour chaque période de nitrification séparément et non pas seulement le total de cette production pour chaque culture; c'est que je changeais de période en période les conditions de culture (aération, température, excès ou manque de base carbonatée), et je constatais au bout de chaque période si ces influences se traduisaient par une production plus riche de nitrate ou de nitrite. Chaque période peut donc être considérée, par rapport à cette question, comme une expérience à part.

Pour terminer, on filtrait une culture une dernière fois, et on en introduisait le dépôt directement dans le ballon de l'appareil de combustion par l'acide chromique¹ pour doser le carbone, faisant partie des corps des microbes. Pour le dosage du carbone organique en dissolution, on réunissait la moitié de toutes les

1. Voir ces *Annales*, 1890, p. 270.

portions conservées, on évaporait jusqu'à petit volume et on procédait au dosage comme d'ordinaire.

Comme liquide de culture on se servait d'une solution ainsi composée :

Phosphate de potasse	4 ^{gr.}
Sulfate de magnésie	0 ^{gr.} ,5.
Eau du lac de Zurich.	1000 ^{cc.}

Tous les jours ou tous les deux jours on ajoutait, au moyen d'une pipette stérilisée, quelques centimètres cubes d'une solution de sulfate d'ammoniaque à 2 %.

Enfin du carbonate basique de magnésie était donné aux cultures, en quantité de 0^{gr.},5 à 1 gramme, à mesure qu'on le voyait se dissoudre.

La teneur de toutes ces substances en carbone combustible était déterminée par trois dosages (par la même méthode) que voici :

1. Solution de phosphate, etc., dans l'eau naturelle : 500^{cc} ont donné 5 mgr. de CO².

2 Sulfate d'ammoniaque : 5 grammes de sel n'ont donné aucune trace de CO².

3. Carbonate de magnésie : 3 grammes ont donné 7^{mgr.} 8 de CO².

On tenait un compte exact de tous les matériaux employés pour chaque culture, en vue de connaître le total de carbone combustible introduit avec eux, et de le soustraire du chiffre de l'analyse.

Il ne serait pas inutile peut-être d'aller tout de suite au devant d'une critique, que pourraient susciter les procédés de culture mentionnés : c'est qu'en enlevant des dizaines de fois les bouchons de coton, soit pour introduire la solution ammoniacale, soit le carbonate, en filtrant, transvasant, etc. les cultures, il y avait trop d'occasions pour les germes de l'air de s'introduire dans les cultures et les rendre impures. J'avoue qu'elles n'étaient pas à l'abri des impuretés pendant ces opérations; j'ajouterai même que j'ai cru inutile de prendre quelques précautions extraordinaires, et cela parce que je suis convaincu que les germes de l'air (j'entends les microbes banaux) ne peuvent pas se développer dans un liquide si peu approprié à leurs besoins, *de manière à influencer d'une façon ou d'autre le résultat de*

l'analyse. Mon expérience me permet maintenant d'en nier la probabilité. Je regrette même de ne pas avoir banni de ces expériences mon vase ordinaire de culture¹ avec son bouchon traditionnel de coton, et de ne pas avoir employé exclusivement des grandes cuvettes munies de bons couvercles. C'est ce que je recommande à ceux qui voudraient répéter ces expériences. On pourra, rien que par cela, gagner beaucoup de temps en augmentant considérablement la rapidité de la nitrification. Nous verrons pourquoi.

Quant aux méthodes de dosage des oxydes d'azote², je me tenais au procédé suivant : je dosais l'azote nitrifié total par le protochlorure de fer, ensuite l'azote nitreux seul par le permanganate de potasse ; l'azote nitrique n'était pas directement dosé, mais trouvé par différence.

On pourrait avoir quelques doutes sur la sûreté de l'emploi du permanganate dans ce cas, car ces liquides n'étaient pas complètement exempts de matière organique. Mais ils n'en contenaient que très peu, et puis ces matières étaient évidemment de nature à ne pas être oxydées par la liqueur permanganique à froid. On pouvait le conclure de ce fait, qu'en modifiant diversement le mode de titrage de manière à prolonger l'action du permanganate ou à la rendre aussi courte que possible, le résultat restait absolument le même.

Le mode de titrage le plus commode avec des solutions si riches en nitrite consistait à ajouter à 100^{cc} d'eau distillée et fortement acidulée quelques centimètres cubes de permanganate et de titrer lentement, goutte à goutte, par le liquide à analyser jusqu'à décoloration ; puis de nouveau très lentement, en agitant beaucoup, par le permanganate jusqu'à coloration rose assez durable. Les dosages exécutés de cette manière concordaient à ne laisser rien désirer.

Les tableaux qui suivent présentent en milligrammes les résultats de mes dosages.

Les quatre cultures qu'on a choisies pour ces expériences, nos 11, 12, 26, 30 n'étaient pas récentes, mais âgées de plusieurs mois ; elles avaient été mises en train par une quantité de

1. Des matras coniques hauts de 12^{cm},5, à fond plat d'un diamètre de 12^{cm}.

2. Voir pour le dosage de carbone par voie humide mon deuxième Mémoire.

semence infinitésimale, et tenues en réserve en vue d'expériences ultérieures¹.

Les 11 mars, 30 avril, 25 mars, 24 mars respectivement, on en a extrait les organismes pour les soumettre à la culture intense; les autres dates sont les jours de renouvellement du liquide. Il y a donc autant de périodes de nitrification pour des végétations de plus en plus riches, qu'il y a de dates.

Quant au second tableau, il n'y a qu'à expliquer que la colonne marquée « à soustraire », contient les quantités d'acide carbonique correspondantes au carbone combustible introduit avec le liquide de culture, le sel ammoniacal et le carbonate de magnésie.

DOSAGES DE L'AZOTE NITREUX ET NITRIQUE

	AZOTE TOTAL	AZOTE NITREUX	AZOTE NITRIQUE	NITRITE DE MAGNÉSIE	NITRATE DE MAGNÉSIE
N° 11 11 mars	84.5	81.3	3.2		
1 ^{er} mai	205.8	202.7	3.1		
13 juin	153.4	151.1	2.3		
30 juillet ²	278.3	278.3	—		
TOTAL	722.0	713.4	8.6	2955.5	45.4
N° 12 30 avril	192.6	189.3	3.3		
17 juin	140.8	137.7	3.1		
23 juillet	172.7	171.7	1.0		
TOTAL	506.1	498.7	7.4	2066.0	39.1
N° 26 25 mars	159.0	151.9	7.1		
12 mai	264.0	239.5	24.5		
18 juin	136.3	123.2	13.1		
29 juillet	369.0	365.6	3.4		
TOTAL	928.3	880.2	48.1	3646.5	254.2
N° 30 24 mars	214.3	209.6	4.7		
12 juin	308.0	297.4	10.6		
28 juillet	293.1	291.3	1.8		
TOTAL	815.4	798.3	17.1	3307.2	90.4

1. On gagne trois ou quatre semaines si, en commençant des expériences comme celles-ci, on prend des végétations déjà assez riches au lieu d'ensemencer par une trace de ferment.

2. L'analyse a donné ici pour l'azote total 270.9 ce qui est évidemment inexact.

Je trouve dans mes notes que j'ai oublié de m'assurer avant l'analyse de la disparition complète de l'ammoniaque. Une petite quantité de sel ammoniacal a probablement causé une perte pendant l'ébullition précédant le dosage par le proto-chlorure. En mettant l'azote total égal à l'azote nitreux la faute en sera pas grande.

DOSAGE DU CARBONE ORGANIQUE

	ACIDE CARBONIQUE EN MILLIGRAMMES					CARBONE ORGANIQUE GAIN NET
	DÉPOT	LIQUIDE	TOTAL	A SOUSTRAIRE	RESTE	
N° 41	59.5	26.0	85.5	43.4	72.4	49.7
N° 42	49.6	16.0	65.6	9.8	55.8	45.2
N° 26	87.0	26.0	113.0	16.0	97.0	26.4
N° 30	70.8	21.2	92.0	40.0	82.0	22.4

Les chiffres de ces tableaux nous enseignent :

1° Que la majeure partie, on pourrait même dire la presque totalité, de l'azote ammoniacal a été convertie en azote nitreux. Les quatorze périodes de nitrification des quatre cultures se ressemblent sous ce rapport, le taux des nitrates formés étant pourtant quelque peu différent. Evalué en centièmes de l'azote total, l'azote nitrique est représenté dans les quatre cultures, par les chiffres suivants :

N° 41	N° 42	N° 26	N° 30
1.2	1.5	5.2	2.1

Il n'y a que le n° 26 qui diffère sensiblement, dépassant de 3.6 % la moyenne des trois autres cultures, qui est de 1.6 %. Quelle est la cause de cette différence ? Je l'ignore. Cette culture a montré pendant toute la durée de l'expérience une énergie de nitrification supérieure aux autres de beaucoup. Ce n'est pourtant pas à cette circonstance qu'il faut attribuer la formation un peu plus abondante de nitrates, ainsi que nous le verrons plus loin.

2° La comparaison des chiffres d'azote oxydé et de carbone assimilé nous conduit à une curieuse conclusion.

Je les réunis dans le petit tableau suivant :

	N° 41	N° 42	N° 26	N° 30
Azote oxydé. . .	722.0	506.1	928.3	815.4
Carbone assimilé. .	49.7	45.2	26.4	22.4
Rapport . . .	36.6	33.3	35.2	36.4

On y voit que les maxima et les minima d'assimilation coïncident parfaitement avec les maxima et les minima d'oxyda-

tion. Ce résultat était à prévoir : l'oxydation de l'ammoniaque étant la seule source d'énergie dont dispose le microbe (du moins dans ces conditions d'existence), le travail de synthèse doit nécessairement dépendre de ce phénomène. L'assimilation ne s'opère qu'autant que marche l'oxydation. Mais il y a plus. Il paraît qu'il existe entre ces deux fonctions un rapport constant. La concordance des chiffres que j'ai trouvés pour ce rapport, n'étant pas parfaite, est néanmoins assez grande pour qu'on ait le droit d'y voir plus qu'un simple accident.

On est d'autant plus autorisé à le croire qu'il est impossible d'expliquer cette concordance par un parallélisme, par une uniformité complète des quatre expériences. C'est le contraire qui est le cas ici. Elles ont été menées tout à fait indépendamment l'une de l'autre : leur durée totale est très différente ; le produit de la nitrification y varie presque du simple au double ; la marche de la nitrification a été très inégale, tant dans les cultures différentes, que dans les périodes successives d'une même culture ; quelques influences nuisibles n'ont pas manqué, par exemple, des arrêts de nitrification plus ou moins longs, causés par manque de surveillance (surtout chez n° 11), etc.

En un mot l'histoire de toutes ces cultures est toute différente et si, malgré cela, le rapport dont nous parlons s'est maintenu constant, il faut y voir l'expression d'un trait physiologique, théoriquement très intéressant, de notre ferment.

3° La lenteur extraordinaire de la croissance du ferment nitrique est facile à comprendre, en considérant la disproportion entre son action oxydante et l'action assimilatrice.

En prenant la moyenne de quatre expériences, nous voyons que l'assimilation d'un milligramme de carbone ne se fait qu'à mesure de l'oxydation de 35.4^{mgr} d'azote, ce qui équivaut à 96^{mgr} d'acide nitreux ¹.

1. M. Elfving a récemment (*Studien über die Einwirkung des Lichtes auf Pilze*) émis des doutes sur la réalité du fait de l'assimilation de l'acide carbonique par notre ferment. Il dit avoir observé un fait analogue, le développement et même la formation de quantités considérables de matière organique par une mucédinée dans un milieu qui en était privé ; mais que le phénomène s'expliquait dans ce cas par l'absorption de traces de composés organiques volatils de l'air ambiant. Sans plus de raisons, M. Elfving applique cette observation au fait que j'ai décrit, quoiqu'il démontre tout de suite lui-même, par son *seul* dosage de carbone amassé par sa mucédinée, combien est minime le résultat du travail d'une plante ne pouvant utiliser que cette source de carbone. Avec *sept* cultures ayant duré 8 mois, il n'est parvenu

II.

La formation de nitrites pendant la nitrification a été déjà, il y a longtemps, observée, notamment par MM. Schlœsing et Müntz, R. Warington et autres. M. R. Warington, dans une note parue vers la fin de mars ¹, et dont je n'ai eu malheureusement connaissance que fort tard, a insisté particulièrement sur le fait du caractère purement nitreux de la nitrification dans des solutions aqueuses et a avancé quelques hypothèses sur ce sujet.

Enfin, M. Percy Frankland et M^{me} Frankland, qui ont réussi indépendamment de moi à isoler un organisme nitrifiant, font remarquer dans un Mémoire détaillé, tout récemment paru ², que le seul produit de la nitrification dans leurs expériences était de l'acide nitreux.

Reste donc à expliquer pourquoi la nitrification dans le sol est presque toujours nitrique, tandis qu'en culture pure du ferment en solutions aqueuses, elle est au moins très souvent nitreuse. J'attendrai le résultat de mes expériences en train pour discuter cette question. Cette fois, si j'y reviens, ce n'est que pour en finir avec les observations que m'ont suggéré les expériences dont nous nous sommes occupé dans ce mémoire.

Aussitôt que je me suis assuré de l'abondance des nitrites dans mes cultures, j'en cherchai l'explication dans l'opinion de MM. Schlœsing et Müntz sur ce sujet. L'acide azoteux ne se formerait, d'après ces auteurs, qu'en certaines circonstances qui entravent le travail du ferment nitrique, comme manque d'air, température trop basse, milieu trop alcalin. Ce n'est qu'une aération insuffisante de mon liquide que je pouvais rendre responsable du fait, les autres conditions étant sûrement bien en règle. J'avais en effet quelques indices que l'aération de mes liquides, étalés en couches d'un demi à un centimètre de profondeur, dans des matras bouchés par du coton, pourrait bien devenir insuffisante après une multiplication considérable du ferment. Je voyais, par exemple, après avoirensemencé une culture par

qu'à égaliser le gain en carbone organique d'une seule culture de la nitromonade d'une durée beaucoup plus courte.

J'espère que M. Elfving sera persuadé par les nouvelles preuves du présent mémoire et qu'il n'insistera pas sur sa critique un peu trop hâtive. C'est pour cela qu'il me paraît inutile de m'en occuper ici plus longuement.

1. *Chem. News*, vol. LXI, n° 1582.

2. *Phil. Transactions*, vol. 184 (1890).

une trace de ferment, la nitrification devenir régulièrement de plus en plus rapide à mesure du développement du microbe; mais après vingt jours environ d'une nitrification bien soutenue, cette marche ascendante s'arrêtait, le phénomène devenait stationnaire. On avait beau prolonger la culture, veiller soigneusement aux doses d'ammoniaque et à toutes les autres conditions, l'oxydation ne dépassait plus une certaine quantité, généralement de 40-50^{me} de sulfate d'ammoniaque en 24 heures. C'était évidemment anormal et faisait soupçonner que les cellules du ferment, trop serrées, trop nombreuses dans le liquide, arrivent à se gêner mutuellement dans leur fonction en se disputant l'oxygène de l'air, dont la vitesse de diffusion n'égale plus la consommation.

Pour s'assurer si cette supposition était juste, il n'y avait qu'à étaler ces riches cultures sur une surface beaucoup plus grande. C'est ce que je fis. Je transvasai deux cultures, les n^{os} 11 et 26, dans de grands cristallisoirs cylindriques, munis de couvercles bien débordants, mais laissant passer l'air librement. Le liquide couvrait maintenant une surface de plus de quatre fois plus grande qu'auparavant et n'avait qu'une épaisseur d'un millimètre à peine.

J'extraits de mes notes leur journal de nitrification pour une période précédant et suivant le transvasement (n^o 26), ou le suivant seulement (n^o 11). Les chiffres se rapportent au sulfate d'ammoniaque en milligrammes, ++ veut dire réaction de Nessler considérable; +, trace de réaction; 0, réaction nulle.

N ^o 26			
Juillet	8	0	120
—	10	+	40
—	11	+	40
—	12	+	100
—	14	++	
—	15	0	120
—	18	0	140
Transvasement.			
Juillet	19	++	60
—	21	0	120
—	22	+	120
—	23	+	120
—	24	0	120
—	25	0	140
—	26	0	250
—	28	0	

N ^o 11			
Transvasement.			
Juillet	5		40
—	9	+	
—	10	0	40
—	12	0	100
—	15	+	120
—	17	0	120
—	18	+	120
—	19	+	200
—	21	+	
—	22	0	100
—	23	0	202
—	25	+	40
—	26	0	200
—	28	0	

La culture n° 26 a donc nitrifié pendant dix jours (juillet 8-18) avant le changement de vase et pendant le même intervalle après, en somme :

	Avant	Après
Sulfate d'ammoniaque	420	1070 ^{mgrs}
Soit : azote.	90	227
Azote par jour	9	22.7 ¹

Pour le n° 11 je ne puis rendre la différence aussi frappante, car immédiatement avant le changement de vase, cette culture était malade et ne nitrifiait pas du tout. Je puis assurer que jamais avant, depuis le 11 mars jusqu'au 10 juillet, l'oxydation des journées les plus actives n'avait dépassé 8.5^{mgrs} d'azote. Maintenant elle a nitrifié pendant 18 jours, du 10 au 28 juillet :

	mgrs
Sulfate d'ammoniaque	1242
Soit : azote.	263.5
Azote par jour.	14.6

L'influence favorable d'une aération plus parfaite est donc très marquée. On la connaissait déjà certainement : les expériences de M. Schlöesing avec la terre l'ont suffisamment démontrée; mais il était curieux de constater qu'un optimum d'aération pour le ferment nitrique est bien au delà de ce que nous pouvons lui offrir dans nos meilleures conditions de culture aérobie.

Voyons maintenant quelle a été son influence sur la production de nitrate. Pendant cette nitrification exaltée, d'une intensité qui n'a jamais été observée jusqu'à présent, la formation de

1. Il faut dire qu'en jugeant de l'intensité de la nitrification par les quantités d'azote ammoniacal disparu, on arrive à des chiffres un peu au-dessus de la vérité, car on ne retrouve jamais tout l'azote ammoniacal ajouté dans les produits de la nitrification. Il y a toujours une perte assez sensible. Mais cette circonstance n'influencera guère le calcul que nous venons de faire. Ainsi nous avons, pour toute la dernière période de nitrification (18 juin-29 juillet) du n° 26 :

	mgrs.
Sulfate d'ammoniaque	1910
Soit : azote ajouté.	405
Retrouvé comme azote nitreux et nitrique.	369
Perte pendant quarante jours.	36
Soit par jour	0.9

Le chiffre de 22.7 mgr. d'azote nitrifié par jour diminue ainsi jusqu'à 21.8. Mais il faut encore prendre en considération que, cette perte résultant probablement de la décomposition de nitrite d'ammoniaque, la moitié de l'azote se perd déjà nitrifié. Le vrai chiffre est par conséquent entre les deux.

nitrate n'a non seulement pas monté, mais encore abaissé considérablement. Ainsi pour les quatre périodes de nitrification du n° 26, le taux de l'azote nitrique, en centièmes, était :

1 ^{re} ,	2 ^e ,	3 ^e ,	4 ^e période,
4.5	9.3	9.6	0.9

La dernière est précisément celle pendant laquelle la culture a changé de vase.

Un accès d'air illimité n'a pas favorisé, par conséquent, l'oxydation complète de l'azote ammoniacal; elle est restée incomplète, malgré sa rapidité.

Il en a été de même de quelques autres influences que j'ai essayées. Un coup d'œil sur le tableau des dosages d'azote apprend que leur effet a été nul, et que le taux d'azote nitreux et nitrique a peu varié en général. Inutile d'en parler alors.

Par ces observations, il y a au moins cela de gagné, que les causes de l'oxydation complète ou incomplète de l'ammoniaque ne sont pas à chercher dans l'influence immédiate des conditions de culture. Elles sont plus profondes et plus compliquées.

PRÉSENCE DU BACILLE TYPHIQUE

DANS L'EAU DE SEINE

PENDANT LE MOIS DE JUILLET 1890

Par H. VINCENT, aide-major, adjoint au laboratoire de bactériologie
du Val-de-Grâce.

Les divers travaux ou rapports de MM. Brouardel, Chantemesse et Widal, Régnier, Olivier, Schneider ont péremptoirement démontré que le lourd contingent payé par la population parisienne à la fièvre typhoïde est dû, le plus souvent, à la consommation des eaux de la Seine et de la Marne. La distribution de ces eaux dans certains quartiers de Paris est toujours régulièrement suivie, quelques semaines après, d'une augmentation parfois considérable du nombre des entrées hospitalières par dothiénenterie dans ces mêmes arrondissements. D'une façon générale, la zone recevant l'eau de Seine fournit une mortalité typhique trois à quatre fois plus forte que celle des zones qui boivent de l'eau de source.

La constatation de l'agent pathogène lui-même de la fièvre typhoïde a été faite par M. Loir ¹ et par M. Thoinot ² dans l'eau de la Seine. Le premier l'a trouvé dans l'eau de son logement, à l'Institut Pasteur; le deuxième, ayant recueilli de l'eau de Seine à Ivry, à l'endroit où la machine élévatoire prélève l'eau qui doit être distribuée à Paris, y a également rencontré le bacille pathogène.

1. LOIR, *Annales de l'Institut Pasteur*, août 1887.

2. THOINOT, *Bulletin de l'Académie de médecine*, avril 1887.

La question de la nocuité, par conséquent bien établie, de l'eau de la Seine, reste néanmoins toujours ouverte, puisque une grande partie de la population est desservie par elle : c'est pour quoi il nous a paru utile de faire, à plusieurs reprises, l'analyse de cette eau pendant le mois de juillet dernier. L'eau a été recueillie à un robinet qui sert aux lavages, dans l'une des cours de l'École du Val-de-Grâce.

La recherche spéciale du bacille d'Eberth et du *Bacterium coli commune* a seule été faite. Le procédé employé a été celui des passages successifs dans le bouillon phéniqué, porté à la température de 42 degrés ¹.

Dans six tubes de bouillon de bœuf peptonisé, additionné d'une proportion d'acide phénique égale à 0,7 pour 1000, on a versé de cinq à quinze gouttes de l'eau de Seine à analyser. Les tubes, fermés d'un capuchon de caoutchouc, ont été portés ensuite à l'étuve réglée exactement à 42°. Dès que ces tubes ont commencé à se troubler, on a fait subir à chaque culture un deuxième et, au besoin, un troisième passage d'épuration par un réensemencement successif dans le bouillon phéniqué, à la température de 42°.

Généralement deux passages suffisent. Le nombre des tubes à réensemencer se restreint, d'ailleurs, de plus en plus si l'on a soin d'éliminer, après le deuxième passage, les tubes présentant une culture floconneuse ou recouverte d'une pellicule : ces derniers n'appartiennent pas, en effet, au bacille typhique.

Un certain nombre de microorganismes résistent à l'épreuve précédente. Ce sont, d'une part, le bacille typhique et le *Bacterium coli commune* ; d'autre part, le *Bacillus mesentericus vulgatus*, un streptocoque fréquent dans l'eau, enfin plusieurs rares espèces bacillaires indéterminées qu'on pourra très vite différencier du bacille typhique par leurs caractères propres sur tous les autres milieux de culture, ou par leur réaction vis-à-vis de la méthode de Gram.

Le *Bacterium coli commune* se développe aussi bien que le bacille typhique dans les conditions ci-dessus : cet organisme étant particulier aux matières fécales, il n'est pas indifférent de

¹ H. VINCENT, *Soc. de Biol.*, 1^{er} février 1893, et *Annales de micrographie*, juin 1890.

le rencontrer dans l'eau. Mais, en outre, comme les eaux qui recèlent l'agent pathogène de la fièvre typhoïde le doivent, le plus souvent, à leur contamination par des matières fécales spécifiques, il en résulte que très souvent le *Bacterium coli* existe concurremment avec le bacille d'Eberth dans les eaux de boisson ainsi adultérées.

On comprend donc que, si l'on fait l'essai bactériologique de ces eaux, le bouillon phéniqué donne, dans ces cas, une culture mixte des deux organismes. Pour les séparer et les obtenir isolément, il suffit de faire une culture sur plaques avec le bouillon dans lequel ils se sont simultanément développés.

Dans les analyses de l'eau de Seine, le *Bacterium coli commune* et le bacille typhique ont ainsi été rencontrés, à deux reprises, dans les plaques faites en ensemençant la culture mixte obtenue par l'épreuve du bouillon phéniqué porté à 42°. Au bout de quatre à cinq jours, on observait, sur la gélatine, deux espèces de colonies : les unes opaques, larges, épaisses, à développement rapide; les autres translucides, nacrées, minces, faiblement élevées au centre. Portées séparément dans le bouillon, puis sur les autres milieux et en particulier sur la pomme de terre, les premières ont donné les réactions de culture du *Bacterium coli commune*. Les secondes ont présenté rigoureusement tous les caractères du bacille d'Eberth, caractères qui se sont entièrement conservés jusqu'à ce jour.

Le bacille ainsi isolé à deux reprises est très mobile, décoloré par la méthode de Gram; ne liquéfiant pas la gélatine; formant, sur la pomme de terre, une culture mince, glacée, incolore; il s'est comporté, sur les divers milieux, comme le bacille typhique ensemencé parallèlement.

Nous avons comparé le bacille trouvé dans l'eau de Seine avec les bacilles pseudo-typhiques qui ont été récemment décrits par M. Cassedebat¹, et qu'il a bien voulu très obligeamment nous envoyer, sur notre demande. Ces derniers organismes ont été d'abord ensemencés dans le bouillon de bœuf peptonisé et portés à 37°; de là, ils ont été réensemencés successivement dans la gélatine (gélatine-piqûre, gélatine inclinée, culture sur

1. Le Bacille d'Eberth-Gaffky et les bacilles pseudo-typhiques, ces Annales, n° d 25 octobre 1890, p. 625.

plaques) à la température de 20°; sur gélose, sur pomme de terre et dans le bouillon à la température de 37°.

Le pseudo-typhique 1 a formé, sur gélatine inclinée, une culture saillante et opaque; les plaques de gélatine ont été liquéfiées par lui au quatrième jour. Enfin, sur pomme de terre, la culture s'est devenue jaune et grenue au troisième jour. Le bacille est immobile.

Le pseudo-typhique 2 donne, sur la pomme de terre, une trainée humide absolument semblable à celle du bacille d'Eberth; mais il ne pousse pas dans le bouillon phéniqué à 42°, et forme, à la surface de la gélose, une culture blanche, à bords foliacés, et sur la gélatine inclinée une culture blanche, envahissante, tachetée et striée, qui ne ressemble en aucune façon à celle du bacille typhique.

Le pseudo-typhique n° 3 pousse très bien dans le bouillon phéniqué à 42°, mais il a fourni sur la gélatine, une culture épaisse et opaque, et, sur la pomme de terre, au bout de vingt heures, une trainée jaune-brun, foncée, épaisse, analogue à celle du *Bacterium coli commune* et nullement comparable à celle du bacille d'Eberth.

Enfin ces trois bacilles, surtout les pseudo-typhiques 1 et 2, forment à la surface du bouillon un voile membraneux assez épais; tous trois également sont peu ou point mobiles.

Les caractères différentiels qui viennent d'être signalés sont très tranchés et ne permettent pas de confondre les microorganismes précédents avec le bacille typhique. Nous avons, d'ailleurs, rencontré souvent dans les analyses d'eaux des bacilles très semblables aux pseudo-typhiques, mais la liquéfaction plus ou moins précoce de la gélatine, les anomalies de cultures dans les autres milieux nous ont fait écarter l'idée d'une assimilation avec le bacille typhique lui-même.

Nous pensons donc pouvoir confirmer que l'organisme que nous avons isolé dans l'eau de Seine est le bacille typhique. Les essais d'isolement ont été faits les 3, 13, 16, 19, 23 et 30 juillet 1890. Dans les six cas, l'eau de Seine renfermait le *Bacterium coli commune*, organisme des matières fécales. Enfin, à la date du 13 et du 16 juillet, l'analyse a pu y déceler la présence d'un microbe identique à celui de la fièvre typhoïde.

RECHERCHES SUR LA DIGESTION INTRACELLULAIRE

CHEZ LES PROTOZOAIRES

(1^{re} PARTIE)

Par FÉLIX LE DANTEC.

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Il y a déjà longtemps que la digestion intracellulaire chez les protozoaires a intéressé les naturalistes, et a été étudiée par des procédés expérimentaux.

C'est en effet un des phénomènes vitaux les plus intimes qu'il nous soit donné d'observer à la base du règne animal.

Les travaux de M. Metchnikoff sur la phagocytose ont montré que ce processus joue un rôle très important dans la résistance des tissus à l'invasion microbienne, et cette découverte augmente considérablement l'intérêt de la question.

Je m'occuperai dans ce travail du mécanisme de la digestion, à l'intérieur de la cellule, des matières ingérées, et non des transformations chimiques des substances déjà incorporées au protoplasma.

La première question étudiée est celle des vacuoles qui entourent les ingesta; c'est au moyen de réactifs colorants particuliers, que l'on peut avoir sur ces vacuoles les renseignements les plus intéressants.

I

ÉTUDE DE LA DIGESTION INTRACELLULAIRE AU MOYEN DU TOURNESOL.

Plusieurs observateurs se sont servi du tournesol pour étudier la réaction du contenu des vacuoles des protozoaires.

Engelmann¹ a vu des grains de tournesol bleu devenir rouges dans des *Stylonychia*, des *Paramecium aurelia*, et une espèce d'amibe; mais il a attribué au protoplasma lui-même la réaction acide ainsi observée.

M. Metchnikoff² a montré au contraire chez les *Stylonychia* et les *Vorticella convallaria*, que le protoplasma est alcalin et que les vacuoles sont acides.

M. Greenwood³ n'a pu, au moyen du tournesol, déceler aucune réaction dans les vacuoles de l'*Amæba proteus* et de l'*Actinospherium Eichornii*.

L'emploi du tournesol demande quelques précautions.

Il y a, comme on sait, dans cette substance, un excès d'alcalinité qu'il faut commencer par faire disparaître, car le volume de la vacuole est du même ordre de grandeur que celui du grain ingéré.

Si le tournesol brut, employé tel quel, a démontré, chez quelques infusoires, l'existence d'un acide dans les vacuoles, c'est que, dans ces espèces, l'acidité est très notable; il n'en est pas de même dans la plupart des cas.

Il faut aussi tenir compte de l'alcalinité du liquide chargé d'infusoires dans lequel on l'introduit.

Il est possible, avec certains infusoires bien résistants, de ramener presque à la neutralité le liquide de l'aquarium, en y ajoutant des doses ménagées d'acide chlorhydrique.

En employant avec ce liquide neutre du tournesol sensibilisé, on a un critérium très net de l'acidité à l'intérieur de l'animal, par la comparaison de la teinte du tournesol interne et du tournesol externe. L'un doit être rouge clair, l'autre bleu opaque.

C'est sur le *Stentor polymorphus* que j'ai fait le plus d'expériences par cette méthode.

On peut, avec de la patience, assister à l'ingestion, par un *Stentor* sous le microscope, d'un fragment de tournesol, et à son virage, mais il est plus commode de mettre dans un verre de montre une eau contenant plusieurs *Stentors* avec des grains de tournesol à teinte sensible. De temps en temps, au moyen d'une

1. *Physiologie d'Hermann*, 1879, V, I, p. 349.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 janvier 1889, page 28.

3. *Journal of physiology*, vol. VII, n° 3, et vol. VIII, page 263.

pipette, on pêche ces animaux visibles à l'œil nu, et on isole sur un porte-objet celui qu'une première observation rapide au microscope a montré porteur d'une vacuole rouge.

J'ai employé bien souvent cette méthode, et suivi le sort de la vacuole rouge observée; pour étudier cette vacuole à un fort grossissement, il faut poser avec précaution une lamelle couvre-objet sur la goutte d'eau, après avoir soutenu l'un de ses bords par un corps peu épais; de cette façon, on aplatit légèrement le Stentor sans l'écraser.

N'ayant pas observé l'ingestion, on doit démontrer que la vacuole rouge contient bien du tournesol.

Pour cela, il suffit d'écraser l'animal sous la lamelle; la vacuole se rompt et le tournesol rouge devient bleu. Qu'il le devienne par contact avec le protoplasma alcalin, comme le pense M. Metchnikoff ¹, ou par l'eau alcaline extérieure, cela n'en démontre pas moins qu'il était en contact auparavant avec un liquide différent, c'est-à-dire qu'il était enfermé dans une vacuole.

Au lieu d'écraser l'animal, ce qui est impossible, par exemple, quand on opère sans couvre-objet, on peut déposer, sur le bord de la préparation, une goutte d'ammoniaque; le corps de l'animal s'éclaircit rapidement et finit par se désagréger, pendant que le grain rouge devient brusquement bleu.

Quand on observe longtemps un Stentor portant une vacuole rouge, on peut éviter l'application de ces deux procédés, si l'on a la chance de voir l'animal rejeter le grain coloré; celui-ci devient bleu dans l'eau extérieure. On a l'avantage d'observer en même temps le phénomène de l'éjection; il faut attendre très longtemps pour être témoin de ce phénomène; j'ai vu quelquefois un grain rouge, non accompagné de matière nutritive, rester 12 ou 13 heures dans le corps de l'animal; d'autres fois, il a été rejeté très rapidement.

Souvent, en effet, j'ai observé des grains rouges de tournesol dans des vacuoles ne contenant aucune matière nutritive; la formation d'acide semble donc indépendante du caractère nutritif de la substance absorbée. On peut objecter que n'ayant pas suivi le phénomène dès le début, j'ai pu ne pas voir une

1. Metchnikoff, *op. cit.*

matière nutritive déjà dissoute au moment de mon observation.

J'ai répondu à cette objection en opérant directement sur le porte-objet en goutte suspendue; j'ai vu ainsi des *Stentors* avaler des grains de tournesol bleu, non accompagnés de matière nutritive, et ces grains ont rougi.

Cette observation est instructive; le tournesol reste bleu plus ou moins longtemps, suivant que sa neutralité avait été plus ou moins parfaitement obtenue; mais ce temps n'est jamais bien long chez le *Stentor*, où l'acidité est très nette. Et puis, brusquement, en quelques secondes, il devient rouge clair par des états intermédiaires peu sensibles. On peut dire que de noir il devient rouge.

Le temps nécessaire pour que le tournesol bleu rougisse étant d'autant plus long que le tournesol était primitivement plus alcalin, il est clair que nous assistons à une sécrétion lente d'un acide; cette sécrétion passe inaperçue, tant qu'elle ne sert qu'à saturer l'alcalinité préexistante, mais elle fait virer brusquement le tournesol quand l'acidité apparaît.

On peut ajouter que ce virage rapide restreint le champ des hypothèses à faire sur la nature de l'acide sécrété. Un virage rapide avec le tournesol caractérise les acides forts, minéraux ou organiques; nous sommes donc déjà autorisés à éliminer les acides élevés de la série grasse qui ne donnent pas de virage brusque, et nous pouvons conclure :

1° Que chez le *Stentor polymorphus*, les corps ingérés, nutritifs ou non, se trouvent au bout de quelque temps dans un milieu acide;

2° Que l'acidité est progressive comme si elle était due à une sécrétion;

3° Que l'acide produit est un acide fort.

Après le *Stentor polymorphus*, qui est certainement le type donnant les résultats les plus nets, j'ai fait des observations sur un grand nombre de ciliés.

Le *Stentor caruleus* et le *Stentor Roeselii*, donnent, mais avec moins de rapidité, les résultats du *S. polymorphus*. Avec le même tournesol, il faut, par exemple, environ trois fois plus de temps pour que l'on ait la coloration rouge chez le *Stentor Roeselii* que chez le *Stentor polymorphus*, ce qu'il est très facile de constater, puisque ces deux animaux vivent très souvent dans les mêmes aquariums.

Des *Paramécies*, des *Amphileptus*, des *Leucophrys* m'ont donné également la réaction acide que j'ai pu mettre en évidence avec du tournesol sensible, même chez les *Euplotes* à qui elle était refusée jusqu'à présent.

A part la *Vorticella microstoma*, aucun Péritriche ne m'a donné par ce procédé de réaction acide; il m'a même semblé que le tournesol était nuisible à ces animaux; des *Carchesium*, des *Epistylis* sont morts au bout de peu de temps en gouttes suspendue, avec les vacuoles et le noyau bleus.

Chez les animaux cités plus haut qui m'ont donné des résultats positifs, comme les *Stentors*, *Paramécies*, *Stylonychies*, etc., j'ai pu remarquer, par la juxtaposition de deux animaux différents sur un même porte-objet, que les vacuoles rouges de ces divers animaux avaient la même nuance; il est assez difficile de faire la comparaison chez les animaux colorés comme les *Stentors* verts et bleus; mais, chez les animaux hyalins, cette comparaison est facile.

Il est donc probable que l'acide qui cause cette coloration est le même dans tous les cas, puisque le tournesol présente, bien que faiblement, cette particularité précieuse de donner des teintes rouges différentes avec les différents acides.

Ajoutons donc pour les *Stentors*, *Paramécies*, etc., les conclusions suivantes à celles qui ont déjà été posées :

4° La sécrétion de l'acide est plus ou moins rapide suivant les espèces;

5° L'acide semble le même pour toutes les espèces observées.

Le tournesol a des avantages, mais il a aussi des inconvénients; il faut toujours tenir compte de la lenteur avec laquelle il arrive au virage quand il est un peu alcalin.

M. Metchnikoff¹ a vu, dans les leucocytes de la larve de *Triton taeniatus*, que « dans quelques-uns de ces macrophages, il se trouvait à côté d'un grain rouge de tournesol une vacuole remplie de granules bleus de la même substance, ce qui prouve que la production du suc acide intracellulaire peut se localiser dans une partie restreinte de la cellule. » C'était peut-être plutôt que les grains de tournesol observés ayant été ingérés à des

1. Metchnikoff, *op. cit.*

époques différentes, l'un d'eux pouvait déjà être rouge, tandis que les autres n'avaient pas encore été amenés à la neutralité.

M. Greenwood¹ a vu que les *Amibes* rejetaient toujours le tournesol à l'état bleu, et a ainsi méconnu chez ces protozoaires la production d'un acide. Cet observateur n'a pas été plus heureux en se servant de la tropéoline et du violet de méthyle.

J'ai été conduit à des résultats très nets par l'emploi d'une matière colorante que m'a procurée M. Metchnikoff, dont les conseils m'ont toujours été très utiles dans la suite de ces expériences.

Il tenait lui-même de M. Ehrlich ce réactif, qui est l'alizarine sulfoconjuguée, et qui est précieux pour l'étude des solutions alcalines faibles et des sécrétions acides des protozoaires, comme nous allons le voir.

II

PROPRIÉTÉS DE L'ALIZARINE SULFOCONJUGUÉE.

L'alizarine sulfoconjuguée se présente à l'état solide sous l'aspect d'une poudre brune. Son pouvoir colorant est considérable; l'eau distillée pure en dissout environ un cinq centième de son poids, et cette solution saturée a une couleur brun orangé assez foncé. Elle conserve très longtemps sa limpidité dans un flacon bien bouché, à l'abri de l'air impur du laboratoire.

Cette liqueur neutre, brun orangé, vire au violet en présence des bases alcalines ou alcalino-terreuses et des sels alcalins, et au jaune en présence des acides sulfurique, chlorhydrique, azotique... etc., et, parmi les acides organiques, des acides acétique, oxalique, lactique, etc., et des sels acides. Il faut faire une exception pour l'acide urique, qui donne une coloration rose vague.

Pour étudier d'une façon précise les propriétés du réactif, j'ai fait deux solutions équivalentes à volumes égaux d'acide sulfurique et de potasse, renfermant chacune 18 centièmes d'équivalent par litre.

Dans un vase de verre à fond plat, posé sur une feuille de papier blanc, j'ai introduit 200^{cc} cubes d'eau distillée et 10^{cc} de

1. Greenwood, *op. cit.*

la solution titrée d'acide sulfurique, puis quelques gouttes de la solution d'alizarine sulfoconjuguée.

J'ai obtenu ainsi un liquide jaune limpide, qui est resté jaune quand j'y ai fait couler goutte à goutte la solution de potasse, jusqu'au moment où j'en ai ajouté 9^{cc},9.

Une goutte (d'environ un dixième de centimètre cube) de plus fait passer la liqueur au brun orangé; une de plus, au rose.

Voilà, en ce point, un virage très net dont peuvent se servir les chimistes; mais ce n'est pas cette propriété qui nous sera utile.

Continuons à laisser tomber goutte à goutte la solution de potasse; nous voyons la nuance de notre liqueur passer petit à petit, par gradations insensibles, mais très nettes par comparaison, du rose au violet.

Au bout de 10 à 11 gouttes, nous arrivons à un violet que nous ne pouvons plus dépasser, quelque grande quantité de potasse que nous ajoutions.

J'appellerai cet intervalle du rose le plus extrême au violet limite, la zone sensible de l'alizarine.

Ce virage graduel nous donne donc un moyen de suivre une sécrétion alcaline dans le voisinage de la neutralité, à condition de conserver toujours comme point de comparaison une des nuances intermédiaires du rose violacé.

Mais opérons maintenant en sens inverse. Partons du violet et laissons tomber goutte à goutte la solution titrée d'acide sulfurique. Dès que nous aurons atteint le violet limite, nous verrons l'addition d'une goutte modifier légèrement la teinte, et une dizaine de gouttes nous ramènera à la teinte rose; une goutte de plus donnera la teinte orangée qui est très passagère et est simplement du rose jaune, et une dernière goutte donnera du jaune.

Partageons cette gamme du violet au rose, obtenue en versant une dizaine de gouttes d'acide, en six teintes :

Violet 1 2 3 4 rose

dont chacune correspond à l'addition de deux gouttes de notre solution acide. L'expérience montre qu'elles sont distinctes et reconnaissables, et pourtant le poids d'acide contenu dans les

deux gouttes de solution qui permettent de passer de l'une à l'autre est à peu près, ainsi qu'il est facile de le calculer, de $\frac{1}{150000}$ du poids total de la liqueur.

Voici, d'une manière générale, le procédé que j'ai suivi pour utiliser cette propriété de l'alizarine sulfoconjuguée dans l'étude de la réaction des vacuoles digestives des protozoaires. Je ne parle pas des dispositifs spéciaux à chaque cas, que j'exposerai ultérieurement.

L'eau dans laquelle vivent les protozoaires est le plus souvent légèrement alcaline, et donne à l'alizarine une teinte de la zone sensible. L'alizarine forme dans cette eau, quand on l'abandonne dans un verre de montre, de petits grumeaux qui en peu de temps deviennent tout à fait violets par l'action de l'ammoniaque de l'air du laboratoire. Quand on conserve ce verre de montre pendant deux ou trois jours, recouvert d'un verre semblable, la matière colorante y forme de longues aiguilles violet foncé.

Suivant les cas, ce sont ces grumeaux rose violet, ou ces aiguilles violettes, qui sont ingérées par les protozoaires.

Qualité très précieuse, les variations de couleur de l'alizarine sont au moins aussi sensibles au microscope qu'à l'œil nu. Voici une petite expérience qui rend compte des résultats annoncés plus haut, sans qu'il soit besoin de grand soin pour la faire.

Sur une lame porte-objet, on dépose une goutte d'alizarine violette; à côté, on dispose une goutte d'acide chlorhydrique étendu; les deux gouttes se mélangent lentement par diffusion, et voici ce que l'on observe au microscope : une région jaune, limitée par une mince ligne orange qui la sépare d'une région rose à teintes dégradées vers le violet, enfin une région violette. On y voit facilement par conséquent le virage brusque du jaune à l'orange et au rose, et au contraire le virage successif du rose au violet.

L'alizarine teint en violet les infusoires morts, et le noyau se colore alors plus fortement que le reste du protoplasma.

Quand on fait une préparation de *Carchesium* en goutte suspendue, avec de l'alizarine sulfoconjuguée, le pied ramifié se colore vite en violet très net, sans que l'animal en souffre le moins du monde. Le protoplasme du corps reste d'ailleurs incolore (en dehors des vacuoles d'ingestion, naturellement).

La coloration est peut-être encore plus rapide avec les *Epistylis*.

Je me contente de signaler en passant ces faits qui viennent s'ajouter aux phénomènes déjà nombreux de coloration des infusoires vivants décrits par M. Certes.

Le pouvoir colorant de ce réactif ne se borne pas aux protozoaires. La membrane basale de l'*Hydre grise* se colore aussi très fortement en violet, sans que l'animal semble en souffrir le moins du monde. Enfin, dans une préparation contenant de l'alizarine violette, j'ai vu les deux fentes latérales du petit turbellarié sans yeux appelé *Stenostomum*, fortement colorées en rose clair.

III

RHIZOPODES.

J'ai étudié la digestion intracellulaire chez deux espèces d'*Amibes*; l'une, à pseudopodes courts et massifs, existant dans une infusion de foin ordinaire, l'autre ayant de longs pseudopodes très extensibles et très fins, existant en quantité très considérable dans une infusion de débris organiques exotiques, que m'a obligeamment procurée M. Certes; cette dernière infusion m'a été d'autant plus précieuse que, comme je le montrerai tout à l'heure, il est nécessaire pour poursuivre cette étude d'avoir une infusion très riche en amibes.

Je vais m'occuper particulièrement de cette espèce sur laquelle j'ai pu faire des observations réitérées.

Comme je l'ai déjà dit, le tournesol me semblant incapable de donner des résultats certains, j'ai d'abord repris la question de la réaction des vacuoles.

Pour cela, je mets en contact une solution d'alizarine devenue violette au contact de l'air du laboratoire avec le liquide à amibes qui est d'ordinaire assez alcalin pour que le violet persiste; au besoin, on approche de la surface un bouchon de flacon à ammoniac.

Le mélange fait, on en place une goutte sur le porte-objet et on y cherche une amibe; à l'origine, toutes celles que l'on trouve sont claires et dépourvues de vacuoles colorées au milieu de la solution violette.

Au bout de quelques heures, au contraire, presque toutes les amibes présentent des vacuoles d'une couleur rose, très distincte de la couleur violette de l'alizarine externe ; ceci démontre qu'il y a production d'acide autour du grumeau d'alizarine ingéré, car il est constant, d'après toutes les précautions que nous avons prises, que l'amibe a pu seulement ingérer de l'alizarine violette.

Pour être bien sûr que la matière rose incluse est bien de l'alizarine, il suffit d'écraser l'amibe, ou de déposer sur le bord de la lamelle une goutte d'ammoniaque.

Voilà donc un procédé très simple et qui réussit toujours ; il est bon d'attendre environ deux jours après la préparation de l'infusion colorée que j'ai décrite ; au bout de ce temps l'alizarine se trouve presque entièrement rassemblée au fond du verre de montre, sous forme de longues aiguilles violettes, formant çà et là des enchevêtrements bizarres.

En prenant avec une pipette une goutte du liquide du fond de la préparation, on trouvera les amibes rassemblées aux environs des amas aciculaires de matière colorante et, à ce moment, presque tous les individus possèdent des vacuoles roses.

Je dis des vacuoles roses et non pas jaunies, car en partant du violet comme nous l'avons fait, il est rare que l'amibe conserve assez longtemps son alizarine pour qu'elle devienne jaune ; je l'ai vu cependant un certain nombre de fois chez les deux espèces que j'ai étudiées.

Et ceci nous prouve combien les observateurs qui se servaient de tournesol avaient de chances de ne pas constater la production d'acide, puisque dans presque tous les cas nous constatons cette production, sans que la neutralité soit dépassée dans la vacuole.

Il est bien établi par cette expérience que l'alcalinité diminue dans le grain ingéré.

Ici se pose la question de savoir si ce grain, matière non nutritive, amène une sécrétion et la formation d'une vacuole autour de lui. M. Greenwood ¹ prétend qu'il n'en est jamais ainsi. L'emploi de l'alizarine va nous permettre de résoudre toutes ces questions.

Il suffit de mettre un peu de patience dans l'observation

1. Greenwood, *op. cit.*

microscopique et d'opérer en gouttes suspendues, de façon à gêner le moins possible l'amibe chez laquelle on veut observer un phénomène, non pathologique, mais physiologique.

Dans un verre de montre nous mettons quelques gouttes de l'infusion contenant nos amibes, et nous ajoutons une goutte de la solution d'alizarine à un cinq centième. Le liquide tout entier prend la teinte 2; on conçoit facilement qu'avec quelques précautions on puisse mettre une goutte de ce liquide sous une lamelle posée sur une lame creuse, sans que la couleur se modifie; l'addition de vaseline aux bords de la lamelle empêchera l'accès de l'ammoniaque de l'atmosphère.

Cherchons une amibe; au bout d'un temps plus ou moins long, nous la voyons étendre des pseudopodes vers un grumeau d'alizarine, teinte 2. Ici il faut être attentif; quelquefois, ce phénomène n'a pas de suite, mais quelquefois aussi, sans qu'on puisse bien suivre optiquement le processus, on voit brusquement le corps qui était extérieur, situé dans l'amibe, au centre d'une vacuole toujours très nette à ce moment.

Il est probable que les pseudopodes, s'étant touchés en un point, se sont anastomosés brusquement, enclosant le grain de matière colorante dans une vacuole parfaitement ronde et remplie en apparence d'eau empruntée au milieu extérieur.

En effet, dans cette vacuole, le grumeau conserve quelquefois assez longtemps, 2 à 3 minutes au moins, la couleur qu'il avait dans le liquide extérieur, et cela, quelle que soit cette couleur, car nous pouvons répéter l'expérience en partant de l'une quelconque de nos teintes sensibles.

La réaction du liquide de la vacuole, au début, est donc toujours la même que celle du milieu extérieur.

Il faut donc admettre que ce liquide est de l'eau introduite en même temps que le grumeau, ou que le protoplasma a la propriété de sécréter en son intérieur, un liquide ayant toujours, au début, la même réaction que le liquide ambiant.

S'il en était ainsi, on devrait, en changeant la réaction du liquide ambiant, faire aussi changer la réaction de la vacuole. Or si on remplace par de l'eau légèrement acidulée à l'acide sulfurique la vaseline de l'expérience de tout à l'heure, et si, lorsque la vacuole est formée autour du grumeau d'alizarine, on dépose sur le porte-objet une goutte de solution ammoniacale plus que

suffisante pour saturer l'acide qui sert à luter la chambre, on voit, sous l'influence des vapeurs ammoniacales qui se répandent dans cette chambre, le liquide de la goutte suspendue virer au violet, et la vacuole conserver sa teinte première rose.

Donc, le liquide de la vacuole n'est pas sécrété au début par l'amibe, de façon à être toujours de la même alcalinité que l'eau ambiante; or, comme cette identité d'alcalinité est constatée, il y a évidence que l'eau de la vacuole est empruntée au milieu extérieur.

Revenons à notre première préparation à la vaseline. Au bout de 2 à 3 minutes, l'alizarine contenue dans la vacuole commence à virer au rose, ce qui est facile à constater, puisqu'en vertu des précautions prises, nous avons à l'extérieur un milieu d'alcalinité et par conséquent de coloration constantes.

On peut suivre pendant plusieurs heures la modification de la coloration, modification qui devient de moins en moins sensible à mesure qu'on s'approche du rose, car on y est plus loin du terme de comparaison qui est voisin du violet.

Il m'a été donné quelquefois de voir cette coloration passer à l'orangé et au jaune, après quoi, aucune modification de nuance n'est plus sensible. Mais, en général, l'expulsion de la matière colorante arrive avant que l'on ait atteint la neutralité complète; alors il est très curieux de voir, surtout quand on opère en milieu violet, la matière rejetée prendre brusquement la couleur de l'alizarine externe.

Nous assistons donc ici à une diminution progressive de l'alcalinité de la vacuole, diminution qui peut aller jusqu'à la neutralité, et même aboutir à une acidité réelle.

Nous pouvons même faire un calcul approximatif de la quantité d'acide sécrétée dans une vacuole pendant le passage du violet à l'orangé, ou à l'un des états intermédiaires.

Le virage du violet au rose correspond, d'après les nombres donnés plus haut, à une quantité d'acide égale à $\frac{1}{15000}$ du volume de la vacuole dont le diamètre varie de 4 à 7 ou 8 μ ; la quantité d'acide sécrétée est donc de un trente millionième à un soixante millionième de milligramme.

Ce sont donc des quantités infiniment petites, que la sensibilité de notre réactif nous permet d'apprécier, et jusqu'à un certain point, de mesurer.

Dans le cas où elle n'est pas interrompue par une expulsion, la sécrétion met plusieurs heures à faire passer l'alizarine de sa couleur initiale jusqu'au jaune. Mais une fois la coloration jaune atteinte, nous ne pouvons plus suivre la sécrétion, car la couleur du grumeau ne change plus, quelle que puisse être l'acidité.

En observant plusieurs fois le phénomène que je viens de décrire, et que chacun peut reproduire aisément, j'ai remarqué que les choses se passent exactement de la même façon pour la matière colorante, qu'elle soit ou ne soit pas accompagnée de matières nutritives.

Je me trouve ici en contradiction absolue avec M. Greenwood qui dit, en insistant sur ce fait, que les matières solides non nutritives, ingérées, ne déterminent pas de sécrétion. Cet auteur affirme du reste qu'il n'y a pas de vacuole autour des substances ingérées non nutritives.

Je crois pouvoir affirmer qu'il y a toujours sécrétion, au moins d'acide.

Que la sécrétion soit plus complète quand il y a des substances nutritives, aucun fait ne m'autorise à le nier, mais, au point de vue de l'acidité, les sécrétions sont identiques dans les deux cas.

Quant à l'existence d'une vacuole, elle est très nette au moment où l'on vient d'observer l'ingestion d'un grain de matière solide quelconque.

Ultérieurement, elle devient en effet moins évidente, probablement parce que, par suite des sécrétions dont elle est le siège, sa réfrangibilité devient de moins en moins distincte de celle du protoplasma, mais elle continue à persister; ce qui le prouve, c'est que l'alizarine qu'elle contient ne devient jamais violette comme elle le ferait si, la vacuole se résorbant, elle arrivait en contact avec le protoplasma alcalin. Au contraire, cette alizarine est toujours rejetée avec la teinte la plus rose qu'elle ait acquise.

Il faut donc admettre pour tous les corps solides ingérés, ce qui est vrai pour les corps colorés sensibles aux acides, et dire qu'il y a toujours une vacuole et que cette vacuole persiste jusqu'à l'éjection.

Ce phénomène de l'éjection est très intéressant. M. Greenwood ¹ a considéré tous les phénomènes de digestion intra-cel-

1. GREENWOOD, *op. cit.*

lulaire comme régis par une certaine sélection. Cet observateur a vu les matériaux non nutritifs en contact direct avec le protoplasma, c'est-à-dire dépourvus de cette vacuole qu'il considère comme formée seulement par la sécrétion active; les phénomènes d'éjection qu'il a observés corroborent d'ailleurs cette manière de voir.

« Une amibe prit des grains d'amidon; 4 jours après, elle ingéra des monades, et peu après avoir ingéré les monades, elle rejeta les grains d'amidon, non modifiés, lesquels n'avaient jamais été entourés de vacuoles marquées et ne furent pas accompagnés de fluide, quand ils furent expulsés. »

Un peu plus haut, il constate avec Leidy¹ que l'éjection des matières solides non nutritives n'est pas accompagnée de ce fluide visqueux qui accompagne les débris de substances nutritives.

Je crois que ces diverses observations ne sont pas convenablement interprétées.

Quand on observe une vacuole dans une amibe, il n'est pas très facile de deviner si elle est ancienne ou récente, quoique certains caractères puissent donner des indications, comme nous le verrons.

Au milieu d'un bain d'alizarine violette, on peut au contraire juger de l'âge des vacuoles colorées d'après leur couleur. J'ai vu dans une amibe, une vacuole d'un rose presque violet rejetée un instant avant une autre d'un rose très vif; je ne sais pas si la vacuole violette contenait des matières nutritives, mais j'ai observé que la vacuole rose en contenait; il y avait, entre ces deux vacuoles, une différence caractéristique; la première était à bords bien nets : on voyait que c'était encore presque une goutte d'eau; l'autre au contraire avait une réfrangibilité voisine de celle du protoplasma. Ces deux vacuoles furent rejetées de deux façons bien distinctes. La première creva pour ainsi dire à la surface du protoplasma et laissa sortir son contenu comme un grain isolé; l'autre au contraire fut abandonnée très doucement, et, alors que ses bords étaient peu visibles tout à l'heure, ils le devinrent beaucoup plus, et l'amibe sembla avoir abandonné une sphère glutineuse, contenant des débris de bacilles avec un grain d'alizarine, sphère qui se délita petit à petit.

1. LEIDY, *Fresh Water Rhizopods of N. America.*

L'explication de ce phénomène me semble simple. Si j'appelle a la tension superficielle du liquide de la vacuole au contact du protoplasma, et r le rayon de la vacuole, le liquide de la vacuole subit et résiste à une pression

$$p = \frac{2a}{r}$$

r étant très petit, cette pression peut être très grande si a a une valeur non négligeable. Or a doit varier avec la composition du liquide de la vacuole, laquelle change au moins quant à la réaction, comme nous l'avons vu. L'expulsion avec éclat de la vacuole jeune (contenant un liquide si voisin de l'eau que le grain coloré semble rejeté seul et sans liquide) est différente de l'expulsion douce de la plus vieille (contenant un liquide déjà visqueux qui continue à entourer comme une sphère le grain rejeté), et l'on est naturellement porté à croire que a est plus faible dans le second cas; autrement dit que a diminue à mesure que la sécrétion se fait, ce qui s'explique, car la sécrétion doit transformer le contenu de la vacuole en un milieu plus voisin de la composition du protoplasma.

Et en effet nous constatons deux phénomènes concomitants : quand la vacuole vieillit, sa refrangibilité se rapproche de celle du protoplasma environnant, et en même temps, la force qui s'oppose au mélange de son contenu avec lui diminue.

Il est donc facile de concevoir que, dans ces conditions, les amibes rejettent plus facilement les corps non nutritifs que ceux qui le sont. Je considère le cas le plus simple, celui qu'a observé Leidy¹. La désagrégation et la dissolution dans la vacuole des matières albuminoïdes ingérées, doit en effet faire diminuer a bien plus vite que cela n'a lieu dans une vacuole contenant un corps inerte. Or ce doit être un danger très sérieux que cette pression interne, pour le sort de la vacuole; il est tout naturel que, poussée par les mouvements du protoplasma au voisinage de la limite extérieure du corps, cette vacuole se crève plus facilement quand elle est le siège d'une forte pression.

LEIDY, *op. cit.* Il a observé 2 cas:

1^o Capture d'un *Urocentrum* par l'amibe. Il fut d'abord reconnaissable pendant quelque temps dans la vacuole par ses caractères de structure; au bout de quelque temps, toute trace d'individualité avait disparu.

2^o Ingestion d'une *Amœba verrucosa* par une *Amœba proteus* bien plus grande. Apparence d'une vacuole autour d'une amibe, et division de celle-ci en 4 parties.
— Observation non terminée.

Il faut d'ailleurs remarquer que c'est surtout quelques instants après l'injection que l'amibe abandonne les matières ingérées; si ces dernières résistent quelque temps, elles ont des chances pour prolonger beaucoup leur séjour à l'intérieur.

Carter cite même le cas d'un infusoire ingéré vivant dans une vacuole très nette, et abandonné vivant dans le liquide externe.

Je reviendrai sur ces phénomènes de digestion, après que j'aurai passé en revue les propriétés des vacuoles des infusoires.

Mais je puis dès à présent établir certaines conclusions relatives aux amibes :

1° Les amibes ingèrent indistinctement les matières solides nutritives ou non, ce qui n'est pas étonnant si l'on admet, comme De Bary pour les Myxomycètes, que l'ingestion est le résultat normal du stimulus au point de contact.

2° Ces matières ne sont jamais en contact direct avec le protoplasma, mais sont contenues dans des vacuoles.

3° Le contenu des vacuoles est au début l'eau du milieu extérieur; il s'y produit dans tous les cas, même sans que la vacuole contienne de matière nutritive, une sécrétion acide qui neutralise l'alcalinité de l'eau, et finit même par lui donner une acidité constatable.

4° L'éjection est un phénomène dans lequel on ne peut voir aucun acte voulu de la part de l'amibe, mais une simple chose accidentelle; il faut néanmoins dire que cette éjection est plus facile pour les corps non nutritifs que pour ceux qui le sont.

REVUES ET ANALYSES

ACTION DE LA LUMIÈRE SUR LES MICROBES

REVUE CRITIQUE

LUBBERT. Le *Staphylococcus pyogenes aureus* et le coccus de l'ostéomyélite. Wurtzbourg, 1886. — TH. JANOWSKI. Sur la biologie des bacilles typhiques; action du soleil. *Centralbl. f. Bact.*, 1890, n^{os} 6 à 8. — FR. ELFVING. Études sur l'action de la lumière sur les champignons. Helsingfors, 1890. — O. LOEW. Action des champignons inférieurs sur différentes substances azotées inorganiques. *Biol. Centralbl.*, n^{os} 19 et 20, t. X.

La grande question de l'action de la lumière sur les microbes s'enrichit tous les ans de quelques contributions nouvelles. Après l'avoir examinée en gros, on en cherche maintenant le détail; on veut savoir quelles sont, dans le pinceau complexe de rayons qui nous vient du soleil, les radiations qui agissent, sur quoi elles agissent, si c'est sur l'assimilation ou la désassimilation, et pourquoi la lumière qui est favorable à certaines espèces est défavorable à d'autres. Il semble qu'on quitte ainsi le terrain de l'hygiène pure qui, ne se préoccupant que de l'effet en bloc, peut se croire le droit de se désintéresser du mécanisme. Mais ce point de vue est évidemment des plus étroits. Les questions en apparence les plus pratiques ont besoin d'une étude détaillée et très scientifique. Soumettons donc celle-ci à la règle générale, et voyons quels moyens la science a employés pour en faire l'étude.

Elle a vu tout de suite qu'il fallait renoncer aux mélanges d'espèces, sur lesquels avaient opéré les premiers observateurs. Chaque espèce de microbes, on pourrait même dire, en se rapportant aux expériences de M. Pansini (ces *Annales*, 1889, p. 686), chaque variété a sa façon de réagir vis-à-vis de la lumière, et veut être étudiée à part. Si on l'isole, on voit tout de suite se poser la question du milieu dans lequel il est bon de la cultiver. Faut-il que ce milieu soit des plus favorables? faut-il au contraire le laisser médiocre? Il y a des avantages et des inconvénients des deux côtés. Si le milieu est médiocre, la plante y sera chétive et fragile, et elle pourra, soumise en outre à l'influence dépressive de la lumière, y limiter beaucoup ou même y suspendre son

développement. Avoir une culture qui pousse dans l'obscurité et qui reste stérile à la lumière, voilà un résultat qui semble au premier abord très probant. Mais il faut songer que notre milieu médiocre expose la plante à subir et à traduire avec exagération toutes les influences fâcheuses, même les plus insaisissables, et qu'on ne pourra accuser du résultat celle de la lumière qu'à la condition d'avoir soigneusement éliminé toutes les autres, par exemple celle de la chaleur, que l'on ne sépare pas facilement de l'effet lumineux. Voilà pour la théorie. Pour la pratique, on est évidemment dans des conditions très artificielles.

Si, pour les améliorer, on augmente la valeur nutritive du milieu, on trouvera d'ordinaire que la culture insolée donnera un développement comme l'autre, mais moins abondant, et dès lors, toutes les fois qu'on n'aura pas affaire à un microbe pathogène dont on pourra étudier les variations de virulence, il n'y aura qu'un moyen de traduire l'effet de l'insolation, c'est de comparer les poids de plante poussés au soleil et dans l'obscurité. Mais alors nous retrouvons les conditions posées et réalisées pour la première fois par M. Raulin dans son travail sur *Aspergillus niger* : il faut que le poids de plante qui sert de terme de comparaison, dans notre cas celui qui a poussé dans l'obscurité, soit aussi grand et aussi constant que possible : constant, pour qu'on puisse n'avoir aucun doute sur la diminution de poids observée à la lumière ; grand, pour que la marge offerte à ces diminutions de poids soit très étendue. M. Raulin ne s'est pas contenté de poser ces conditions ; la découverte eût été médiocre. Il a eu le mérite de les réaliser. Son exemple n'a guère été suivi, pas même par Nægeli, dans son grand travail sur la nutrition des champignons, et encore, aujourd'hui, voici par exemple M. Lœw qui, en opérant à la lumière et dans l'obscurité sur du *Penicillium glaucum*, ensemencé dans un liquide minéral avec de la glycérine comme aliment hydrocarboné, trouve pour les récoltes à l'obscurité, dans deux expériences parallèles, des poids de 0^{gr},251 et de 0^{gr},710, tandis qu'à la lumière, deux essais lui donnent 0^{gr},314 et 0^{gr},622. Il n'y a évidemment rien à conclure de pareils chiffres pour ou contre l'influence de la lumière ; la seule conclusion c'est que la méthode ne vaut rien et qu'il faut y renoncer.

Nous voilà donc conduits à donner à la plante un milieu très favorable. Mais, pour beaucoup d'entre-elles, la difficulté est de le trouver. La seule pour laquelle nous le connaissions avec précision est précisément l'*Aspergillus niger* de M. Raulin ; celui-là, on peut le cultiver à l'air avec de l'eau ordinaire, dans des vases non flambés, et presque sans précaution. Il n'y a pas à craindre l'envahissement d'espèces voisines. Pour les autres, il faut mille soins délicats, qui témoignent de notre ignorance des lois de leur nutrition.

Peu de savants ont eu la patience de les chercher, et ils se sont servis des milieux de culture ordinaires avec lesquels on peut obtenir. si, comme M. Elfving, on opère bien, des poids de récolte assez constants, sinon très élevés. L'action de la lumière, si elle est nuisible, se traduit alors par une diminution de récolte, variable il est vrai, avec la nature du milieu, mais qui, si elle est retardatrice pendant toute la durée de la végétation, a chance, si faible qu'elle soit, de se traduire par un effet appréciable, de même que le plus petit grain de poussière dans une montre bien réglée peut amener un retard de plus en plus marqué. Il semble donc en résumé que, pour mettre en évidence l'action fâcheuse ou excitante de la lumière, il soit préférable d'opérer dans les milieux de culture les plus favorables à la plante en expérience.

Cette première difficulté réglée, reste à soumettre la culture à l'action lumineuse seule, en excluant l'action calorifique. Le moyen le plus pratique pour cela est de faire filtrer le rayon lumineux au travers d'une couche d'eau qui le dépouille de la plus grande partie de ses radiations ultra-rouges. Deux à trois centimètres d'épaisseur suffisent pour cela. On peut aussi, comme l'a fait M. Elfving, employer la lumière réfléchie avec laquelle la diminution d'éclat est, il est vrai, à peu près proportionnelle à la diminution de chaleur, mais dont l'action lumineuse peut rester sensible alors que son action calorifique est à peu près éteinte.

Cet emploi d'écrans liquides peut aussi servir à isoler et à étudier séparément les diverses parties du spectre lumineux. On emploie depuis longtemps pour cela des solutions de sulfate de quinine, qui arrêtent surtout les rayons ultra-violets, et ne laissent guère agir que la partie lumineuse du spectre; une solution de bichromate de potasse qui laisse passer les rayons rouges, jaunes, et une partie des rayons verts; enfin une solution ammoniacale de cuivre qui fait presque exactement la contre-partie de la précédente dans le spectre visible, car elle laisse passer les rayons violet, bleus, et quelques rayons verts. Cette méthode, bien que grossière, est préférable à celle qui consiste à isoler les couleurs simples dans un spectre dont on étudie séparément les diverses parties en y exposant les cultures qu'on veut soumettre à l'expérience. La diminution d'éclat produite par le passage au travers du prisme et la dispersion est énorme, et pratiquement le séjour dans une de ces radiations simples équivaut à l'obscurité. Il n'y a donc pas à s'étonner que l'on n'ait encore rien pu tirer de l'emploi du spectre.

Nous pourrions insister davantage sur les conditions expérimentales d'une étude précise, mais nous en avons dit assez pour pouvoir aborder l'analyse des mémoires signalés en tête de cette revue. Celui de M. Janowski va tout de suite soulever une question de méthode. Ce savant a examiné l'action de la lumière diffuse sur le bacille typhique.

M. Gaillard ¹ avait vu ce bacille périr sous l'influence de la lumière solaire; mais M. Janowski devait s'attendre, en affaiblissant la cause, à voir s'affaiblir l'effet, et a dû recourir, pour le manifester, à des différences dans la rapidité du développement. Pour les rendre encore plus marquées, il a fait entrer en jeu une nouvelle influence dépressive, en exposant la culture éclairée et celle qui ne l'était pas à une température peu favorable: c'est la méthode que nous avons visée en commençant cette revue, et dont nous avons indiqué les avantages et les inconvénients.

Parmi les nombreuses expériences de M. Janowski, je n'en citerai qu'une qui les résume toutes. Un tube Pasteur à deux branches contient du bouillonensemencé avec du bacille typhique. On assure l'égale répartition de la semence en faisant passer à plusieurs reprises ce liquide d'une branche dans l'autre. L'une des branches du tube est laissée nue; l'autre est recouverte de papier noir, puis au-dessus de papier blanc, de façon à égaliser autant que possible les pouvoirs émissifs des deux branches et à assurer leur égalité de température. Avec cette précaution, on la réalise à un degré près. En exposant ce tube devant une fenêtre ne recevant jamais le soleil, on trouve que le bouillon de la branche recouverte se trouble toujours avant celui de la branche nue. On obtient les mêmes résultats avec des cultures sur milieux solides. Les retards du développement dans la branche éclairée varient naturellement avec l'éclairement, la nature du milieu, et la température. Nous avons le droit de nous attendre à ces inégalités: mais elles se produisent toujours dans le même sens, et de cela on est autorisé à conclure que même la lumière diffuse exerce une action dépressive sur le bacille typhique.

Quant à la lumière directe, son action est naturellement beaucoup plus vive. Dans des expériences de mai 1889, des tubes comme ci-dessus, exposés au soleil, présentaient dans leur branche nue une température plus élevée que dans la branche couverte; mais la température ne s'est jamais élevée dans aucune au-dessus du degré que peuvent supporter les bacilles typhiques dans le milieu où ils étaient ensemencés. Les cultures, exposées chaque jour pendant 8 heures au soleil, étaient ensuite conservées dans la glace jusqu'au lendemain. Au bout de 6 à 8 heures d'exposition, on observait déjà du trouble dans la branche couverte de papier, tandis que l'autre restait stérile. Cette stérilité pouvait tenir soit à ce que les bacilles avaient été tués, soit à ce que ce liquide avait été rendu chimiquement impropre à leur développement. Pour savoir à quoi s'en tenir sur ce sujet, il n'y avait qu'à retirer de la branche restée stérile une goutte pour l'ensemencer dans

1. *De l'influence de la lumière sur les microorganismes*, Lyon, 1888.

un bouillon nutritif non insolé, puis à introduire dans cette branche une goutte du liquide de celle qui était peuplée. On constate ainsi que le liquide de la branche insolée est resté nutritif, tandis que les germes qu'on y trouve sont incapables de peupler un bouillon nouveau. Ils sont donc morts, et c'est sur eux et non sur le bouillon, dit M. Janowski, que la lumière a exercé son action nocive. La lumière, dirons-nous, et peut-être aussi un peu la chaleur. Il eût été sage de faire ce que M. Janowski a fait plus loin, de laisser les deux branches du tube plonger dans un bocal plein d'eau qui eût diminué l'action calorifique.

On peut pourtant voir en gros, par cette méthode, quel est le temps nécessaire pour la destruction du bacille. Il ne paraît pas pouvoir tomber au-dessous de 4 heures; il est d'ordinaire de 6 heures, et s'élève parfois à 8 ou 10. M. Janowski opérait à Kiew, c'est-à-dire dans une région continentale, dans laquelle, d'après les constatations de M. Sawelieff, l'intensité calorifique des rayons solaires est un peu supérieure à ce qu'elle est en France.

Toutefois M. Janowski montre bien que ce n'est pas tant de chaleur qu'il s'agit que de rayons chimiques. Pour cela, il emploie la méthode des absorbants colorés, du bichromate de potasse, du brun de Bismarck, des couleurs d'aniline, et il trouve que celles de ces liqueurs qui préservent le plus longtemps du noircissement un papier sensible qu'elles abritent de la lumière sont aussi celles qui préservent le mieux de la mort le bacille typhique. Il s'y développe plus vite à la lumière diffuse, il y résiste à la lumière directe. La suppression des rayons chimiques équivaut donc à peu près à l'obscurité, et voilà une notion qui corrobore tout ce que nous savions déjà sur ce sujet.

Il serait évidemment souhaitable de pouvoir faire un pas de plus, et de savoir quelle est la fonction physiologique atteinte par les rayons chimiques. Ces rayons n'agissent d'ordinaire qu'en mettant en jeu une action chimique, qui est le plus souvent un phénomène d'oxydation. Ces phénomènes d'oxydation jouent à leur tour un rôle considérable dans la vie protoplasmique. Envisagée en gros, l'assimilation est une désoxydation, la désassimilation est une oxydation. Est-ce la première qui devient impossible à la lumière, ou la seconde qui se trouve exaltée? Autant de questions qui se posent, et auxquelles les bacilles en général semblent moins disposés à répondre que les mucédinées, qui vivent au contact de l'air, respirent, prennent un poids notable, ont des tissus et des organes variés, etc. C'est à elles que s'est adressé M. Elfving, et ce qu'il a surtout étudié, c'est le côté physiologique de l'action de la lumière.

Un champignon microscopique peut construire ses tissus à l'aide de matériaux très divers : sucres, acides fixes, peptones, albumines.

Chacun a ses préférences, et il est vain d'essayer de fixer une échelle des valeurs nutritives de ces divers substances ou de leurs combinaisons ; mais de ce que, à l'aide de ces matériaux divers, les champignons finissent par se faire toujours à peu près les mêmes tissus et les mêmes organes, de ce qu'ils se font de la matière azotée avec du sucre et de l'ammoniaque, de la matière hydrocarbonée avec de l'albumine ou des peptones, on peut conclure que le mode de synthèse varie d'un milieu à l'autre, et qu'il n'est pas probable que la lumière exerce la même action sur ces procès synthétiques divers. Quels sont, s'est demandé M. Elfving, ceux qu'elle affecte de préférence ?

C'est la première fois, à ma connaissance, que cette question est posée, et cela tient peut-être à ce qu'elle ne semble pas très facile à résoudre. Quand on veut ainsi faire varier le milieu nutritif d'un champignon, il ne peut plus être question pour lui de bon terrain de culture, et par conséquent de constance des récoltes. Il faut se résoudre à des inégalités, dont on combattra le caractère décevant en multipliant les expériences, en mettant tous ses soins à réaliser l'égalité absolue dans les quantités de semence, et dans les conditions de culture à la lumière et dans l'obscurité. M. Elfving y arrive en ensemençant ses liqueurs avec une émulsion très homogène de spores dans l'eau, en les acidulant pour éviter l'intervention des bactéries, en faisant ses cultures dans des flacons d'Erlenmeyer fermés par un tampon de ouate, en évitant les différences de température par l'emploi de la lumière diffuse, ou, quand il s'agissait de lumière directe, par l'emploi d'un miroir, etc. Il a opéré sur deux espèces végétales, une *Briarrea* et un *Penicillium glaucum* dont il indique les caractères et il a réussi à avoir, pour chacune des matières alimentaires mises en œuvre, des poids de récolte variant au maximum dans des cultures parallèles dans le rapport de 3 à 4, mais dont les variations sont d'ordinaire beaucoup plus faibles.

Les matières alimentaires qu'il a essayées appartiennent à trois types, l'acide malique représentant les acides organiques, la dextrine représentant les hydrates de carbone, et la peptone et l'asparagine représentant deux étages différents de l'édifice des matières azotées. Les aliments minéraux étaient dans tous les cas les mêmes, et suffisamment abondants. On peut résumer en gros les résultats en disant que tant que les peptones ou l'asparagine figurent dans le milieu nutritif, qu'elles soient ou non associées à la dextrine, l'action de la lumière reste nulle ou insensible, c'est-à-dire qu'elle n'amène pas de variations supérieures à celles qui se produisent normalement entre deux cultures également traitées. Mais quand on ne donne à la mucédinée que de la dextrine, de la mannite ou de l'acide malique, le poids de récolte dans le matras éclairé à la lumière diffuse est tout au plus

la moitié de ce qu'il est dans l'obscurité. De plus, le *Penicillium* paraît plus sensible à la lumière que la *Briaræa*. En diminuant la lumière, les différences signalées s'affaiblissent. Elles s'exagèrent à la lumière directe, et ici encore, par l'emploi des milieux absorbants, on constate que ce sont surtout les rayons chimiques qui interviennent.

Sur quoi porte leur action? Est-ce de préférence sur les matières hydrocarbonées de la cellule, ou sur son contenu azoté? On peut avoir un renseignement là-dessus en faisant un dosage d'azote sur les récoltes à l'obscurité et à la lumière. On trouve ainsi que la plante à l'obscurité renferme toujours un peu moins d'azote que l'autre. En admettant que la composition de la matière azotée est la même dans les deux cas, M. Elfving en tire la conclusion qu'il y a un peu plus de cellulose dans la plante cultivée à l'obscurité que dans l'autre. Cette conclusion est assez d'accord avec cette loi, qui semble assez générale, que l'élongation des tissus et la formation de cellules nouvelles se font d'ordinaire dans l'obscurité. Mais il faut être prudent quand on veut conclure de ces résultats analytiques aux phénomènes vitaux de la cellule. M. Elfving fait remarquer lui-même, conformément à ce que j'avais vu pour les levures (ces *Annales*, t. II, p. 423) que la richesse en azote de la *Briaræa* est maximum à l'origine de la culture, et va ensuite en décroissant. De 6,82 % le second jour, elle tombe à 4,57 % le sixième. Je ferai voir bientôt que le fait est général, mais que, pour l'interpréter, il faut le rapprocher des variations de poids de la récolte qui ne reste pas constant lui-même; toutefois, comme c'est là un point que M. Elfving n'a pas visé, nous le laisserons de côté pour le moment.

Un autre fait est à noter dans les intéressants résultats de M. Elfving: c'est lorsqu'on offre à la fois à la plante un aliment hydrocarboné (dextrose) et un aliment azoté (peptone), que le poids de récolte est le plus considérable pour une même durée de la culture. Vient ensuite la récolte en présence du dextrose seul, puis, la culture en présence de la peptone seule. Cela veut dire que la plante, qui s'accommode très bien d'une nourriture complète, a pourtant plus de peine à tirer de la peptone ses hydrates de carbone qu'à se constituer par synthèse sa matière azotée aux dépens des nitrates et des sels ammoniacaux de la liqueur, quand on ne lui donne pas d'autre aliment hydrocarboné que de la dextrose. C'est pourtant dans ce dernier mode de nutrition que l'action retardatrice de la lumière est le plus manifeste. Sur quoi s'exerce-t-elle? Il semble difficile de dire que c'est sur la synthèse qui aboutit à la formation de celluloses, car elle devrait alors se manifester encore avec plus d'intensité dans les cultures en présence de dextrose et de peptone, où la récolte est plus copieuse et la création de cellulose beaucoup plus active. Il est plus naturel de conclure que ce qu'elle entrave est la

synthèse du protoplasma azoté, puisque la culture qui en éprouve le plus l'influence est précisément celle dans laquelle l'aliment azoté fourni est le plus éloigné de ce qu'il doit devenir dans la plante vivante. Cette formation protoplasmique gênée dans son évolution, la multiplication cellulaire se trouve atteinte, et on se trouve ramené pour ces plantes inférieures à des vues analogues à celles que Sachs développait en 1863, lorsqu'il faisait remarquer que si l'assimilation chlorophyllienne se faisait surtout au soleil, les parties de la plante qui président à la multiplication cellulaire (cambium, bourgeons, etc), cherchent l'obscurité. A quoi il faut joindre ce que nous disions plus haut, que cette localisation des fonctions dans la plante s'accompagne d'une localisation dans le temps, s'il est vrai que la formation de matériaux nutritifs se fasse surtout le jour et la formation de cellules nouvelles la nuit.

Nous allons trouver une preuve nouvelle en faveur de cette interprétation, si nous examinons l'influence de la lumière sur la respiration de la plante. Il est clair que ce n'est pas pendant la période d'état de la plante, lorsqu'elle a poussé, qu'elle est adulte, ne se multiplie guère, et vit surtout aux dépens de ses réserves, que nous devons nous attendre à voir sa respiration varier beaucoup d'intensité suivant qu'elle est dans l'obscurité et à la lumière. Dans une série d'expériences très soignées, et dans lesquelles il s'est appliqué à éviter toute élévation de température sous l'influence de l'action lumineuse, M. Elfving a trouvé que la quantité d'acide carbonique émis par sa *Briaræa* était à très peu près la même à la lumière et à l'obscurité. En changeant la nature de l'aliment, en remplaçant la *Briaræa* par des *Aspergillus*, un *Penicillum*, le résultat restait le même. M. Elfving ne veut pas dire qu'il n'y avait pas de variations, mais seulement que ces variations ne dépassaient pas celles qui pouvaient se produire dans deux essais parallèles ou consécutifs sur une même plante cultivée dans un même milieu.

Ce fait bien observé est en contradiction avec une conclusion de MM. Bonnier et Mangin qui, dans leur travail sur la respiration des végétaux (*Ann. des Sc. nat.*, sér. VI, Bot., t. XVIII, 1884), ont vu la lumière diminuer très sensiblement la quantité d'acide carbonique émise par des plantes sans chlorophylle. Mais cela tenait sans doute à ce que les plantes sur lesquelles ils ont opéré étaient encore à l'état de croissance, car quand on cherche, comme l'a fait M. Elfving, l'influence de la lumière sur l'expiration d'acide carbonique pendant le développement de la culture, on trouve qu'il y a toujours moins d'acide produit à la lumière qu'à l'obscurité. Mais là encore il faut bien s'entendre, et on peut pousser la déduction un peu plus que ne semble vouloir le faire M. Elfving. L'effet produit sur l'excrétion d'acide carbonique

marche parallèlement à l'effet produit sur la synthèse organique, et si dans certains milieux, par exemple lorsqu'on ne lui donne comme aliments que des sels minéraux et de la dextrose, la plante donne moins d'acide carbonique à la lumière qu'à l'obscurité, c'est surtout qu'elle est moins abondante dans le premier cas. Autant qu'on peut le voir par les nombres donnés par M. Elfving, son activité respiratoire, par unité de poids, est à peu près la même dans les deux cas. S'il y a des différences, ce qui semble probable *a priori*, elles sont faibles et échappent au procédé de mesure.

Concluons donc de ce qui précède que, au moins dans les cas étudiés, ce n'est pas sur les tissus déjà formés de la plante que l'action de la lumière est la plus sensible, c'est sur les tissus en voie de formation ou plutôt sur la création de la matière protoplasmique destinée à présider à ces néoformations qu'elle se fait sentir. Cette conclusion est d'accord avec ce que nous savons sur le monde des microbes proprement dits, sur la résistance des spores, et la sensibilité toute particulière des cellules jeunes et nouvellement formées.

Que cette action lumineuse, s'exerçant sur un protoplasme très vivant, et encore mal protégé par ses enveloppes, y amène des oxydations intérieures ou extérieures, se produisant sous l'influence de l'oxygène de l'air ou de celui qui est déjà combiné dans les tissus, ce n'est encore là qu'une hypothèse, mais une hypothèse très probable, et qui a pour elle de rassembler dans un cadre commun les cas où la stérilité au soleil est due à une transformation dans le liquide nutritif et ceux où elle est due à une action sur le microbe. Ces modifications amenées dans le protoplasma de la plante n'aboutissent d'ailleurs pas nécessairement à sa mort. Elles peuvent aussi, on le sait maintenant, le modifier de façon à changer le mode de prolifération de la plante et ses allures physiologiques. Les lecteurs des *Annales* se rappellent les curieux résultats de M. Laurent sur ce sujet. M. Elfving apporte à cette question une contribution nouvelle des plus intéressantes en montrant que, sous l'action de la lumière, on peut produire au moyen d'une espèce d'*Eurotium* trois races de Levures, ou plutôt de ce que M. Laurent a appelé Formes-Levures, différentes les unes des autres par leurs caractères, leur mode de culture et de prolifération. Mais ceci nous ferait aborder un autre sujet, l'étude des variations morphologiques produites par la lumière. Ce sera l'objet d'une revue prochaine.

Dx.

GAFFKY et PAAK. Contribution à l'étude des empoisonnements par le saucisson et la viande. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundh.*, t. VI, fasc. 2.

Plusieurs cas d'empoisonnement, constatés au mois d'octobre 1885 dans le district prussien de Roehrsdorf et ses environs, ont conduit à une enquête judiciaire contre le boucher de chevaux qui a vendu aux ouvriers de ce pays de la viande de cheval, du saucisson et du foie gâtés. Il n'y avait pas de doute que ce ne fussent surtout les saucissons qui avaient été la cause de l'empoisonnement. La durée de l'incubation était dans la plupart des cas de 12 à 24 heures, mais dans quelques cas elle était encore plus courte, de 6 à 1 heure. La maladie se manifesta par des frissons, de la céphalalgie, des malaises, douleurs d'abdomen, anorexie, borborygmes dans l'abdomen et surtout par une forte diarrhée et un sentiment d'excessive faiblesse, qui durèrent même après la disparition de tous les autres symptômes; chez beaucoup de malades, il y eut des tremblements dans les membres, du vertige, de la soif, une sensation de chaleur et chez quelques-uns de la fièvre intense (T. 40°).

Des saucissons saisis dans la maison du boucher furent envoyés à l'Office sanitaire impérial de Berlin, où ils ont été soumis à un examen bactériologique par MM. Gaffky et Paak. L'isolement des colonies sur plaques de gélatine ne réussit pas à cause de la présence d'un certain organisme protéiforme qui envahissait rapidement le milieu et liquéfiait la gélatine.

On fit trois séries d'expériences sur des animaux. Dans la première, on prépara un extrait aqueux du saucisson, et on en injecta 1/2 centimètre cube sous la peau d'un lapin et d'un cobaye, et deux gouttes sous la peau d'un rat,

Le lendemain on remarqua chez le lapin : de la diarrhée, manque d'appétit, poils hérissés. Mort après 4 jours. Autopsie : œdème du tissu cellulaire sous-cutané autour du point d'injection, péritonite exsudative. Examens microscopiques : autour du point de l'injection, nombreux bacilles courts et étroits; dans les organes internes, pas de bacilles. Sur les plaques de gélatine faites avec du liquide de l'œdème et avec la pulpe de la rate, on trouva des colonies des mêmes bacilles. Au contraire, dans des coupes de la rate et du foie on n'a pas trouvé de bacilles.

Chez le cobaye, le lendemain de l'injection : élévation de la température, sensibilité excessive au toucher, amaigrissement, forte diarrhée. Mort après 14 jours. Autopsie : rougeur de l'intestin grêle,

muqueuse intestinale tuméfiée, ulcération du foie, péritonite exsudative. Dans la rate, les poumons, le foie, les glandes lactifères, beaucoup de bacilles tout à fait identiques à ceux trouvés chez le lapin.

Chez le rat, le lendemain de l'injection : abattement, manque d'appétit, paupières collées comme dans la septicémie des rats, poils hérissés. Autopsie : péritonite exsudative. Dans l'exsudat sur le péritoine, les mêmes bacilles, ainsi que dans la rate et les autres organes internes.

Dans la deuxième série d'expériences on introduisit de petits morceaux du saucisson sous la peau d'un lapin, d'un cobaye et d'un rat. Tous les animaux se rétablirent après des symptômes morbides plus ou moins graves.

Dans la troisième série d'expériences on donna à manger quelques morceaux du saucisson à deux rats. Un est mort le lendemain sans cause connue ; l'autre a montré huit jours après : abattement, les yeux collés ; mort au dixième jour. Autopsie : rougeur de l'intestin grêle et tuméfaction de la muqueuse intestinale. Les plaques de gélatine, faites avec le tissu du poumon, du foie, le sang du cœur et le contenu de l'intestin donnèrent des bacilles tout à fait identiques à ceux de la première série.

Les bacilles ont une longueur deux fois plus grande que leur largeur ; leurs bouts sont arrondis et parfois en forme de lancette ; très souvent on voit deux bacilles attachés l'un à l'autre, parfois ils forment une espèce de fils plus longs ; ils sont en général, dans les mêmes conditions de culture, d'un tiers plus petits que les microbes de la fièvre typhoïde : ils se colorent seulement par l'eau anilinée. Pour étudier la mobilité des bacilles il faut une culture de bouillon jeune. Les plus courts font des mouvements vifs, ondulent sans se déplacer beaucoup, les plus longs en forme de fils, qui ne sont pas nombreux, se meuvent dans une direction déterminée. Sur gélatine ils forment des colonies rappelant celles des bacilles de la fièvre typhoïde. Le bouillon peptonisé neutre ou faiblement alcalin présente les meilleures conditions de développement.

Les bacilles sont des anaérobies facultatifs, leurs colonies se développent aussi bien dans les couches profondes de la gélatine que dans les couches superficielles. La température la plus favorable à leur développement est celle du corps, mais ils croissent aussi à des températures plus basses. On n'a pas remarqué la formation de spores.

Des cultures pures, préparées avec les organes des animaux morts, se sont montrées virulentes pour les lapins, les cobayes, les rats et autres animaux. L'introduction des cultures pures par la voie digestive produisait des symptômes très graves surtout chez les rats, les cobayes et les singes ; au contraire, le chien, le chat et le cochon n'en souff-

fraient presque pas. Chez les rats et les cobayes, la durée de l'incubation fut en général de 2 à 4 ou 5 jours. La durée de l'incubation chez deux singes, qui mangèrent de la culture pure avec des aliments, fut de 24 heures; tous les deux moururent après une maladie qui se manifesta par des symptômes analogues à ceux observés chez les malades de Roehrsdorf (forte diarrhée, excessive faiblesse, etc.).

La culture stérilisée par la chaleur ne produisit aucun effet. On n'a pas trouvé de poisons chimiques.

J. EFRON.

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE
LABORATOIRE
de PATHOLOGIE COMPARÉE

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — NOVEMBRE 1890.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples.....	»	»	»	»	»	»
et à la figure { multiples.....	»	»	»	4	»	»
Cautérisations efficaces.....	»	»	1	»	»	»
— inefficaces.....	»	»	2	»	»	»
Pas de cautérisation.....	»	»	1	»	»	»
Morsures aux mains { simples.....	7	15	15	35	3	8
multiples.....	8	15	20	35	5	8
Cautérisations efficaces.....	1	»	2	»	1	»
— inefficaces.....	9	»	15	»	5	»
Pas de cautérisation.....	5	»	18	»	3	»
Morsures aux mem- { simples.....	3	6	7	17	2	6
bres et au tronc { multiples.....	3	6	10	17	4	6
Cautérisations efficaces.....	»	»	1	»	»	»
— inefficaces.....	3	»	11	»	3	»
Pas de cautérisation.....	3	»	5	»	3	»
Habits déchirés.....	5	»	16	»	6	»
Morsures à nu.....	1	»	1	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps.....	»	»	1	1	1	1
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	»	1	»
Pas de cautérisation.....	»	»	»	»	»	»
Habits déchirés.....	»	»	»	»	»	»
Morsures à nu.....	»	»	1	»	1	»
Totaux. { Français et Algériens.....	19	21	52	57	13	15
Etrangers.....	2	1	5	1	2	1
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL..... 93						

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 66 fois; chats, 23 fois; vache, 1 fois; truie, 1 fois.

TABLE DES MATIÈRES.

Formation de sucrase chez l' <i>Aspergillus niger</i> , par M. A. FERNBACH	1
Bactéridie charbonneuse asporogène, par M. E. ROUX. .	25
Deux travaux du laboratoire de M. BAUMGARTEN, dirigés contre la théorie des phagocytes, <i>Revue critique</i>	35
Le filtrage des eaux, <i>Revue critique</i>	41
Sur les bactéries des voies aériennes à l'état normal, par M. L. VON BESSER	57
Sur le bacille du tétanos, par M. KITASATO	61
Statistique de l'Institut Pasteur, décembre 1889	64
Étude sur l'immunité (2 ^e mémoire), par M. E. METCHNIKOFF.	65
Nouvelles recherches sur le microbe pyocyanique, par M. C. GESSARD.	88
Sur l'exaltation de la virulence du bacille morveux, par M. GAMALEIA.	103
Action de l'eau sur les bactéries pathogènes, <i>Revue critique</i> . . .	109
<i>Vibrio Metchnikovi</i> et ses rapports avec le choléra asiatique, par M. PFEIFFER.	124
Statistique de l'Institut Pasteur, janvier 1890.	127
Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur; résultats statistiques, par M. L. PERDRIX	129
Maladies infectieuses des Paramécies, par M. HAFKINE . .	148
A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés, par MM. ROUX et NOCARD.	163
* Sur les relations du sol et de l'eau qui le traverse, <i>Revue critique</i> .	172
Sur la vitalité de divers microbes pathogènes dans le lait, <i>Revue critique</i>	185
Nouvelles recherches sur la respiration des vers, par M. L. BUNGE.	190
Statistique de l'Institut Pasteur, février 1890.	191
Études sur l'immunité (3 ^e mémoire), par M. E. METCHNIKOFF.	193
Recherches sur les organismes de la nitrification, par M. WINOGRADSKY.	213

Sur les actions chimiques et microbiennes qui se produisent dans le sol, <i>Revue critique</i>	232
Sur la structure des bactéries et organismes voisins, par M. O. BUTSCHLI	245
Les vibrations du choléra dans le corps des pigeons, par M. PFEIFFER et NOCHT	249
Recherches sur l'irritabilité des leucocytes, par MM. MASSART et BORDET	250
Rapport sur la prophylaxie de la fièvre jaune par l'inoculation, par M. STERNBERG	253
Sur l'action germicide du sérum du sang et des autres liquides du corps, par M. MITCHELL PRUDDEN	254
Statistique de l'Institut Pasteur, mars 1890.	255
Recherches sur les organismes de la nitrification, par M. S. WINOGRADSKY.	257
Tumeurs lymphadéniques multiples avec leucémie, par MM. KELSCH et VAILLARD	276
Études sur la pneumonie fibrineuse, par M. TCHISTOWITCH.	285
Étude microbiologique de dix kystes congénitaux, par MM. LANNELONGUE et ACHARD.	293
L'École de Munich et l'École de Berlin, <i>Revue critique</i>	299
Recherches sur la dégénérescence des bactéries pathogènes dans l'eau distillée, par M. CURT BRAEM.	315
Infectiosité des viandes fumées d'animaux tuberculeux, par M. J. FORSTER	319
Statistique de l'Institut Pasteur, avril 1890.	319
Études sur la fermentation du cidre, par M. KAYSER	321
Sur les propriétés chimiotactiques des leucocytes, par M. GABRITCHEWSKY.	346
Recherches sur l'adaptation au milieu chez les infusoires et les bactéries, par M. HAFKINE.	363
Recherches sur les poisons des Bactéries, par MM. BRIEGER ET FRAENKEL	380
Études sur le bacille typhique, par M. WALTER CYGNEUS	382
Statistique de l'Institut Pasteur, mai 1890.	384
Recherches sur la diphtérie (3 ^e mémoire), par MM. ROUX et YERSIN	385
Développement des parasites malariques dans le sang des oiseaux, par M. DANILEWSKY.	427
Contribution à l'étude des phagocytes, par M. DANILEWSKY.	432

TABLE DES MATIÈRES.

807

Contribution à l'étude de la parasitologie du sang, par M. GABRITCHEWSKY.	440
Extrait d'une lettre de M. TCHISTOWITCH à M. Duclaux . .	445
Sur une pseudo-pelade de nature microbienne, par MM. VAILLARD et VINCENT.	446
La morve et l'immunité morveuse, <i>Revue critique</i>	459
Statistique de l'Institut Pasteur, juin 1890.	464
Étude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel, par M. LAURENT.	465
Contribution à l'étude des malts de brasserie, par M. KAYSER.	484
Étude sur la valeur désinfectante de l'acide sulfureux, par M. THOINOT.	500
Sur un cas atypique de rage humaine, par M. SCHAFFER. .	513
Sur la virulence de la bactériidie charbonneuse après pas- sage chez le chien et le lapin vacciné, par M. MALM . .	520
Statistique de l'Institut Pasteur, juillet 1890	543
Contribution à l'étude de la Svinpest, par M. SELANDER. . .	545
Le charbon des poules, par M. WAGNER.	570
Statistique de l'Institut Pasteur de la Société médicale de Charkow en 1889, par M. WYSOKOWICZ	603
Sur la sécrétion des diastases dans l'orge, <i>Revue critique</i>	607
Influence du jeûne sur la disposition aux maladies infectieuses, par MM. CANALIS et MORPURGO.	619
La chemotaxie comme adjuvant dans la recherche bactériolo- gique, par M. ALI-COHEN	622
Statistique de l'Institut Pasteur, août 1890	624
Le bacille d'Eberth-Gaffky et les bacilles pseudo-typhiques dans les eaux de rivière, par M. CASSEDEBAT.	625
Sur l'invertine ou sucrase de la levure, par M. A. FERNBACH.	641
Sur un bacille anaérobie de la fermentation panaire, par M. POPOFF.	674
Action de l'électricité sur les microbes, <i>Revue critique</i>	677
Contribution à l'étude de l'influence de la putréfaction sur les germes du choléra et du typhus, par M. DI MATTEI et CANALIS.	680
Statistique de l'Institut Pasteur, septembre 1890	687
Sur l'antagonisme entre les bacilles du charbon et ceux du pus bleu, par M. BLAGOVESTCHENSKY.	689

Origine tellurique du poison des flèches des naturels des Nouvelles-Hébrides, par M. le D ^r LEDANTEC	716
Expériences sur la réduction des nitrates par les végétaux, par M. E. LAURENT.	722
L'alcool est-il un aliment? <i>Revue critique</i>	745
Statistique de l'Institut Pasteur, octobre 1890.	751
Sur les microbes de l'infection malarique aiguë et chro- niques chez les oiseaux et chez l'homme, par M. DANI- LEWSKY.	753
Recherches sur les organismes de la nitrification (3 ^e mé- moire), par M. WINOGRADSKY.	760
Présence du bacille typhique dans l'eau de Seine pendant le mois de juillet 1890, par M. VINCENT	772
Recherches sur la digestion chez les protozoaires par M. F. LE DANTEC	776
Action de la lumière sur les microbes, <i>Revue critique</i>	792
Contribution à l'étude des empoisonnements par le saucisson et la viande, par MM. GAFFKY et PAAK	801
Statistique de l'Institut Pasteur, novembre 1890	804
Table des matières.	805
Table alphabétique par noms d'auteurs.	809

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

TRAVAUX ORIGINAUX.

ACHARD	V. LANNELONGUE.	
BLAGOVETSCHEVSKY..	Antagonisme des bacilles du charbon et pyocyanique.	689
CASSEDEBAT	Bacille d'Eberth-Gaffky et bacilles pseudotypiques	625
DANILEWSKY.	Parasites malariques dans le sang des oiseaux.	427
—	Contribution à l'étude des phagocytes.	432
—	Malaria aiguë chez les oiseaux	753
FERNBACH.	Sucrase chez l' <i>Aspergillus niger</i>	1
—	Sucrase de la levure	641
GABRITCHEVSKY. . . .	Propriétés chimiotactiques des leucocytes. . . .	346
—	Contribution à l'étude de la parasitologie du sang.	440
GAMALÉIA	Exaltation de la virulence du bacille morveux. .	103
GESSARD.	Nouvelles recherches sur le microbe pyocyanique. .	88
HAFKINE.	Maladies infectieuses des Paramécies	148
—	Adaptation au milieu chez les infusoires et bactéries.	363
KAYSER	Études sur la fermentation du cidre.	321
—	Étude des malts de brasserie.	484
KELSCH et VAILLARD.	Tumeurs lymphadéniques multiples avec leucémie.	276
LANNELOGUE et ACHARD.	Étude microbiologique de dix kystes congelés.	293
LAURENT	Étude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel.	465
—	Sur la réduction des nitrates par les végétaux .	722
LEDANTEC	Poison des flèches aux Nouvelles-Hébrides. . . .	716
LE DANTEC (F.). . . .	Digestion chez les Protozoaires	776
MALM	Virulence de la bactériidie charbonneuse.	520
METCHNIKOFF	Études sur l'immunité (2 ^e Mémoire).	65
—	Études sur l'immunité (3 ^e Mémoire).	193
PERDRIX.	Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur.	129
POPOFF	Bacille anaérobie de la fermentation panaire. .	674

ROUX	Bactéridie charbonneuse asporogène.	23
— et NOCARD. .	A quel moment la bave devient-elle virulente ?	163
— et YERSIN. .	Recherches sur la diphtérie (3 ^e Mémoire)	383
SCHAFER	Sur un cas atypique de rage humaine.	513
SELANDER	Contribution à l'étude du choléra-Hog.	545
TCHISTOWITCH. . . .	Études sur la pneumonie fibrineuse	285
—	Extrait d'une lettre à M. Duclaux.	445
THOINOT.	Étude sur la valeur désinfectante de SO ²	500
VAILLARD	V. KELSCH et VAILLARD	
— et VINCENT.	Sur une pseudo-pelade de nature microbienne.	446
VINCENT	Bacille typhique dans l'eau de Seine.	772
WAGNER.	Le charbon des poules	570
WINOGRADSKY	Recherches sur les organismes de la nitrifica- tion	213
—	Id. (2 ^e Mémoire).	257
—	Id. (3 ^e Mémoire).	760
WYSOKOWICZ	Statistique de l'Institut antirabique de Charkow	603

REVUES ET ANALYSES.

ALI-COEN.	La chemotaxie comme adjuvant en bactériologie.	622
BORDET	V. MASSART et BORDET.	
BRIEGER et FRAENKEL	Sur les poisons des bactéries.	380
BUNGE.	Respiration des vers	490
BUTSCHLI	Structure des bactéries et organismes voisins . .	245
CANALIS.	V. DI MATTEI et CANALIS.	
CANALIS et MORPURGO	Influence du jeûne sur la prédisposition.	619
CURT BRAEM.	Dégénérescence des bactéries dans l'eau	315
DI MATTEI et CANALIS.	Influence de la putréfaction sur les germes du choléra et du typhus.	680
FORSTER.	Viandes fumées d'animaux tuberculeux.	319
FRAENKEL	V. BRIEGER et FRAENKEL.	
GAFFKY et PAAK . .	Empoisonnement par les viandes.	801
KITASATO	Sur le bacille du tétanos.	61
MASSART et BORDET.	Irritabilité des leucocytes.	249
MITCHELL PRUDDEN .	Action germicide du sang et autres liquides. . .	254
MORPURGO.	V. CANALIS et MORPURGO.	
PAAK	V. GAFFKY et PAAK.	
PFEIFFER	<i>Vibrio Metchnikovi</i> et choléra asiatique.	124
PFEIFFER et NOCHT .	Les vibrions du choléra dans le corps des pigeons .	249
STERNBERG	Prophylaxie de la fièvre jaune	253
VON BESSER.	Bactéries des voies aériennes	57
WALTER CYGNEUS . .	Étude sur la bacille typhique	382

REVUES CRITIQUES.

METCHNIKOFF	Deux travaux du laboratoire de M. Baumgarten dirigés contre la théorie des phagocytes . .	35
DUCLAUX.	Le filtrage des eaux.	41
—	Action de l'eau sur les bactéries pathogènes. . .	109
—	Sur les relations du sol et de l'eau qui le traverse. .	172
—	Sur la vitalité de divers microbes pathogènes dans le lait.	183
—	Sur les actions microbiennes qui se produisent dans le sol	232
—	L'École de Munich et l'École de Berlin. . . .	299
METCHNIKOFF	La morve et l'immunité morveuse	459
DUCLAUX.	Sur la sécrétion des diastases dans l'orge. . . .	607
—	Action de l'électricité sur les microbes.	617
—	L'alcool est-il un aliment?	743
—	Action de la lumière sur les microbes	792

STATISTIQUES DE L'INSTITUT PASTEUR.

Décembre 1889	64	Juin 1890	464
Janvier 1890	127	Juillet —	543
Février —	191	Août —	624
Mars —	255	Septembre —	687
Avril —	319	Octobre —	751
Mai —	384	Novembre —	804

FIN DE LA TABLE ALPHABÉTIQUE.

PLANCHES HORS TEXTE.

Planches I et II. . .	Mémoire de M. METCHNIKOFF	66
Planches III et IV. .	— M. HAFKINE.	148
Planche V et VI. . .	— M. METCHNIKOFF	193
Planche VII.	— M. DANILEWSKY	427
Planche VIII.	— M. GABRITCHEWSKY.	440
Planche IX.	— MM. VAILLARD et VINCENT.	446
Planche X.	— M. WAGNER.	570

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.



Fig. 13

Fig. 14

Fig. 15

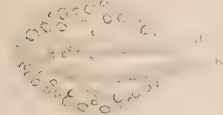


Fig. 18



Fig. 20

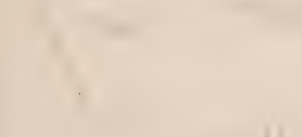
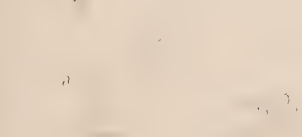


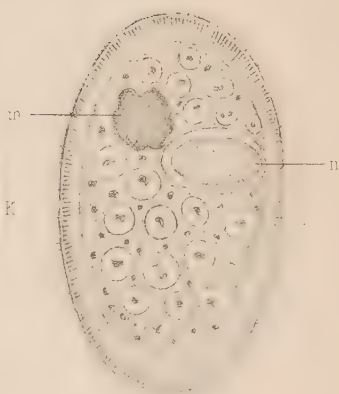
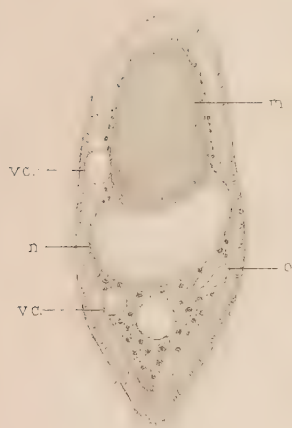
Fig. 24

Fig. 25

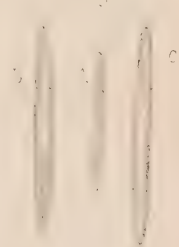
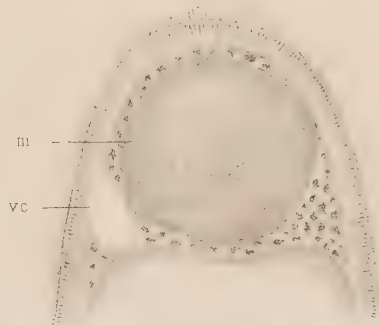
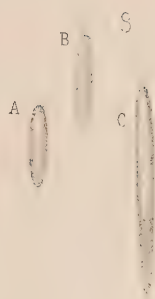
1

7

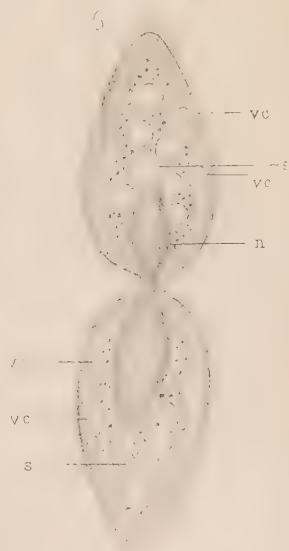
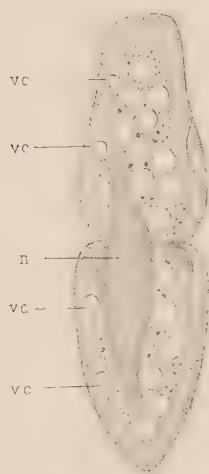
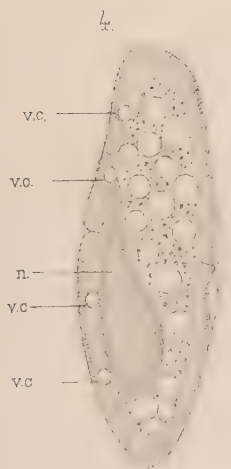
2



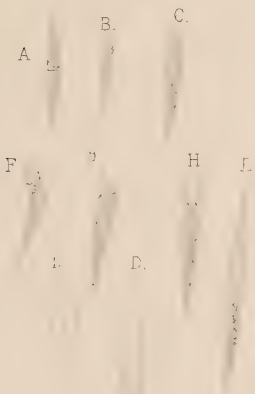
3



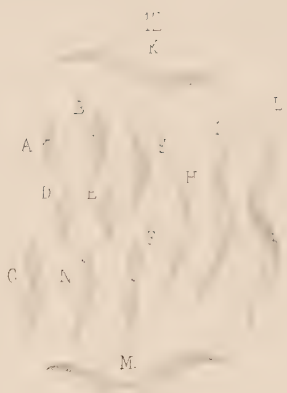
5



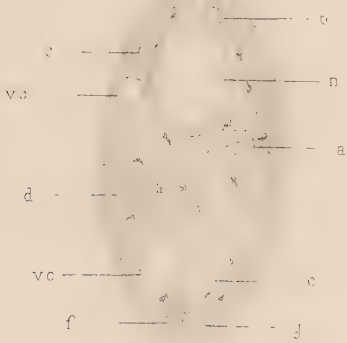
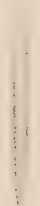
10



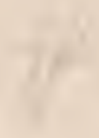
13.



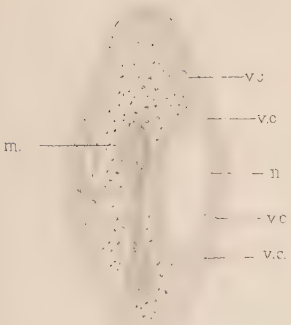
14.



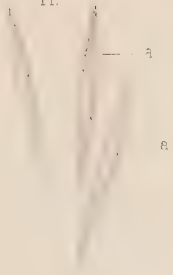
15

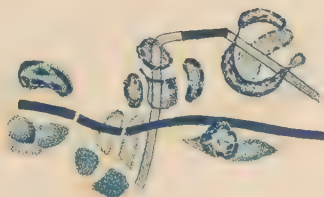
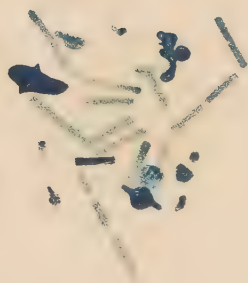
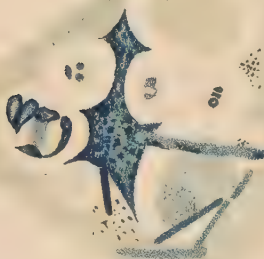
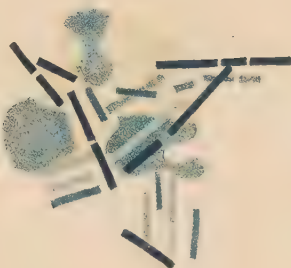
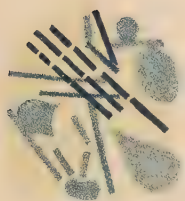
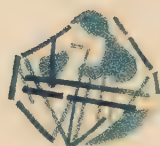
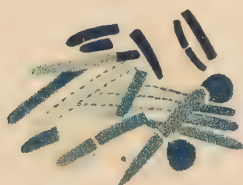
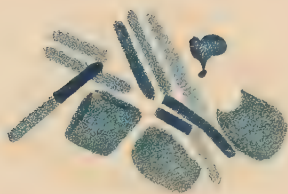
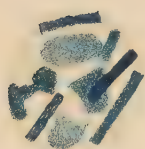


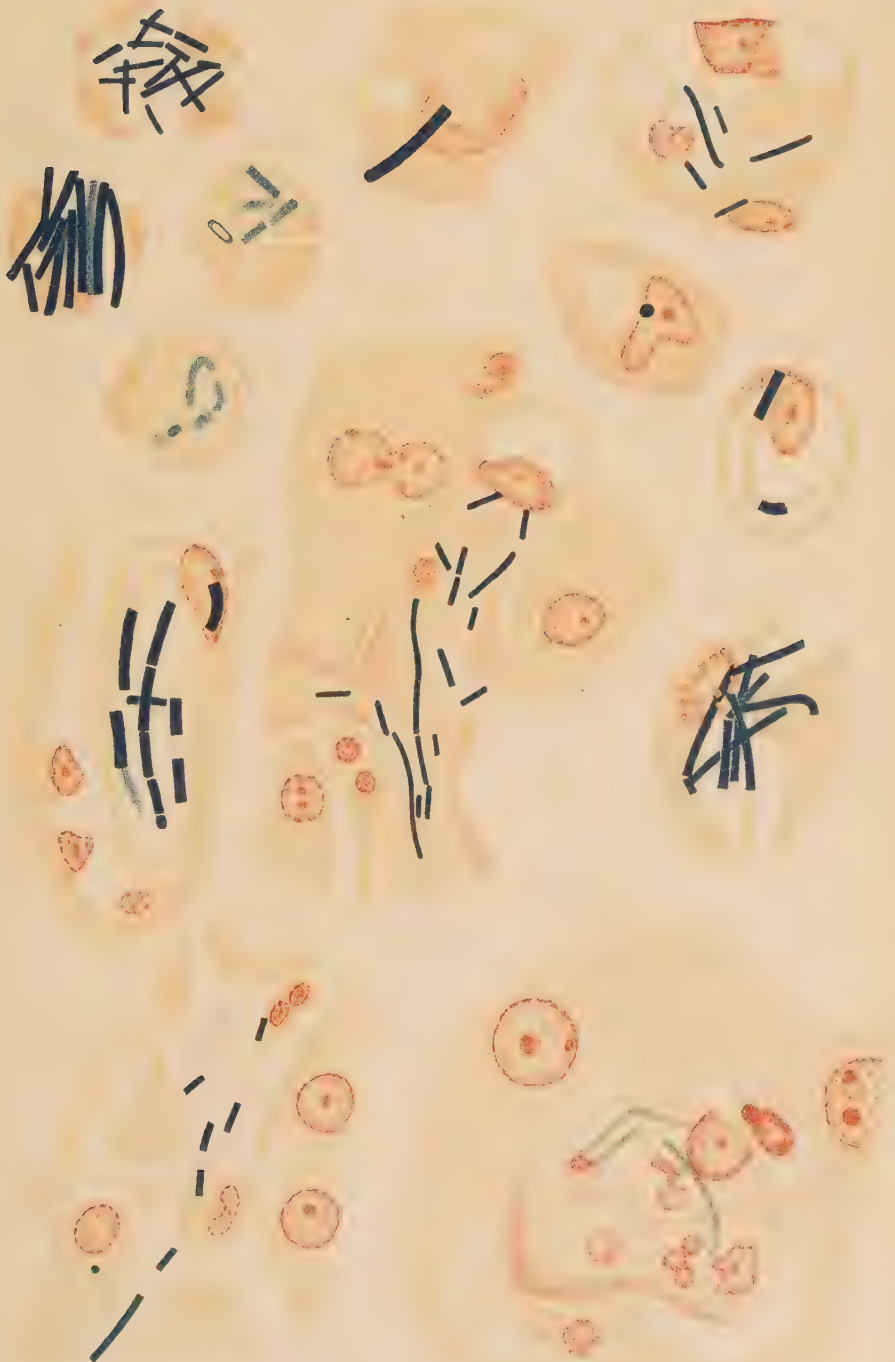
16



11.







A

1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



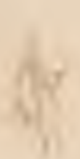
11



12



13



14



15



16



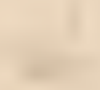
17



18



19



20



21



22



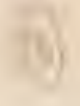
23



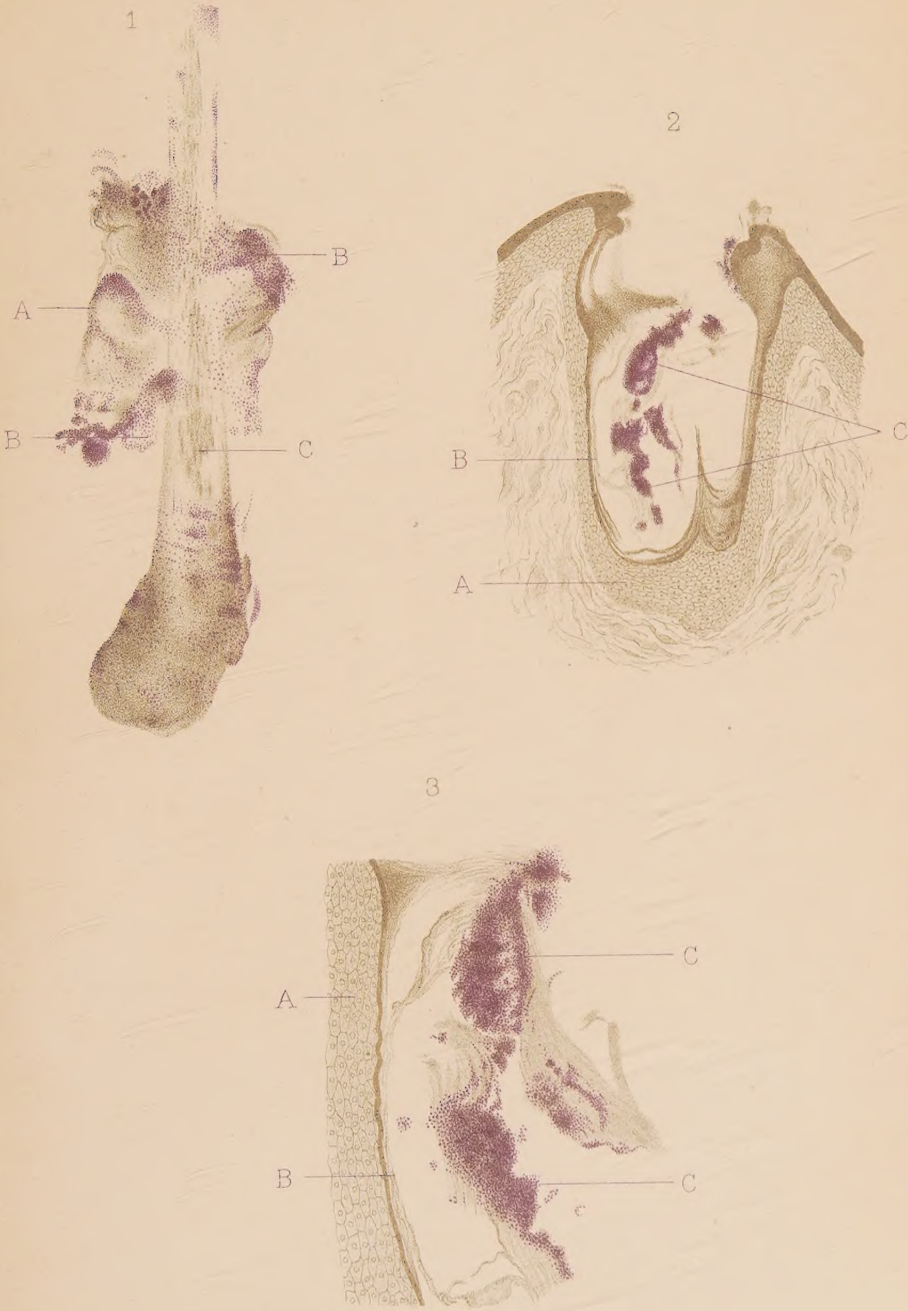
24



25









USÉUM D'HISTOIRE NATURELLE
MUSEUM OF COMPARATIVE
ZOOLOGY